

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Měření nanoviskozity polymerních roztoků pomocí nanosond
metodou DLS

Measurement of nanoviscosity of polymer solutions using
nanoprobes and DLS

Vypracovala: Pavla Melezínková

Vedoucí práce: Mgr. Pavel Berka

Hradec Králové, 2011

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.

.....
podpis diplomanta

Děkuji vedoucímu práce Mgr. Pavlu Berkovi za odborné vedení při zpracování diplomové práce, za věnovaný čas a za poskytování cenných rad.

Děkuji svým nejbližším za podporu po celou dobu studia.

ABSTRAKT

Teoretická část této práce podává stručný přehled nanomateriálů, vzniku nanočástic a jejich využití ve farmacii. Dále pojednává o viskozitě a možnostech jejího měření v makro- i nanoměřítku a stručně popisuje vlastnosti a využití hyetelosity a hyprolosy. V experimentální části této práce byla stanovena makroviskozita a nanoviskozita roztoků polymerů P1, P2 a P3 o koncentracích 0,03125 %, 0,0625 %, 0,125 %, 0,25 % a 0,5 %. Jako nanosondy byly použity polystyrenové nanočástice velikosti 20 nm nebo 60 nm nebo 100 nm. K měření difuzních koeficientů pro výpočet nanoviskozity byla použita metoda DLS. Zjištěná nanoviskozita byla porovnána s makroviskozitou měřenou Ubbelohdeho kapilárním viskozimetrem. Ze srovnání získaných hodnot relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity je patrné, že pro pohyb nanočástic použitých velikostí ve zředěných disperzích polymerů P1, P2 a P3 má nanoviskozita větší význam než makroviskozita.

Klíčová slova : DLS, nanosondy, nanoviskozita, (makro-)viskozita

ABSTRACT

Theoretical part of this work briefly reviews nanomaterials, formation of nanoparticles and their utilization in pharmacy. Further, it deals with viscosity and options for its measurement in both macro- and nanoscale and concisely describes properties and applications of hyetellose and hyprollose. Macroviscosity and nanoviscosity of colloid solutions of polymers P1, P2 and P3 in concentrations 0,03125 %, 0,0625 %, 0,125 %, 0,25 % a 0,5 % were determined in experimental part of this work. Polystyrene nanoparticles sized 20 nm, 60 nm and 100 nm were used as nanoprobess. Diffusion coefficients were measured by DLS and used for calculation of nanoviscosity. Determined nanoviscosity was compared with macroviscosity acquired by measurement using Ubbelohde capillary viscometer. It is apparent from the comparison of the obtained values of relative macroviscosity and relative nanoviscosity that movement of nanoparticles of used size in dilute dispersions of polymers P1, P2 and P3 is more substantially affected by nanoviscosity than by macroviscosity.

Keywords: DLS, nanoprobess, nanoviscosity, (macro-)viscosity

OBSAH

1	ZADÁNÍ PRÁCE	8
2	ÚVOD	9
3	TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1	Nanotechnologie	10
3.2	Nanomateriály	10
3.2.1	Nanomateriály na bázi uhlíku.....	10
3.2.2	Nanokompozity	11
3.2.3	Kovy a slitiny	11
3.2.4	Biologické nanomateriály.....	11
3.2.5	Nanopolymery	12
3.2.6	Nanomateriály pro použití v optice	13
3.2.7	Keramické nanomateriály.....	14
3.3	Nanotechnologie v medicíně a farmacii.....	14
3.4	Vznik nanočástic	16
3.4.1	Vznik v kapalně fázi	16
3.4.2	Vznik v plynné fázi	16
3.4.3	Vznik v prostředí plazmy	16
3.4.4	Vznik ve vakuu	17
3.5	Nanosuspenze ve farmacii.....	17
3.5.1	Výroba nanosuspenzí.....	18
3.5.2	Parametry nanosuspenzí a jejich měření	18
3.6	Viskozita	20
3.6.1	Měření makroviskozity.....	21
3.7	Mikroreologie.....	24
3.7.1	Mikroreologické metody	24
3.8	Dynamický rozptyl světla (DLS)	26
3.8.1	Princip měření	26
3.8.2	Přístrojové vybavení.....	27
3.8.3	Korelační funkce	28

3.9	Polymery	30
3.9.1	Hyprolosa (HPC)	30
3.9.2	Hyetelosa (HEC)	31
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
4.1	Suroviny a materiál	32
4.2	Přístroje a pomůcky	33
4.3	Příprava vzorků pro DLS měření	34
4.3.1	Postup přípravy vzorků pro DLS měření	34
4.3.2	Alternativní postup přípravy vzorků pro DLS měření	36
4.3.3	Příprava kontrolních vzorků	37
4.4	Měření DLS	37
4.5	Stanovení hustoty pyknometricky	38
4.6	Stanovení relativní makroviskozity	38
4.7	Stanovení relativní nanoviskozity	39
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	40
5.1	Hustota	40
5.2	Relativní makroviskozita	41
5.3	Velikost částic	42
5.4	Fotografická dokumentace shluků NČ	43
5.5	Korelogramy	47
5.6	Relativní nanoviskozita	54
5.7	Srovnání relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity	56
6	ZÁVĚRY	62
7	SEZNAM ZKRATEK	63
8	POUŽITÁ LITERATURA	64

1 ZADÁNÍ PRÁCE

1. V teoretické části:

- podat stručný přehled nanomateriálů, vzniku a přípravy nanočástic a jejich využití ve farmacii
- pojednat o viskozitě a možnostech jejího měření na úrovni makro- i nano-měřítko, včetně charakteristiky měřicí metody použité v následujícím experimentu

2. V experimentální části:

A) stanovit makroviskozity roztoků polymerů Ubbelohdeho kapilárním viskozimetrem

Dílními úkoly experimentu jsou:

- příprava roztoků daných koncentrací dispergací polymerů ve vodné fázi
- stanovení hustoty polymerních roztoků pyknometricky
- změření kinematických viskozit roztoků polymerů
- výpočty dynamických viskozit a relativních makroviskozit

B) stanovit nanoviskozity roztoků polymerů DLS metodou

Dílními úkoly experimentu jsou:

- příprava vzorků z roztoků polymerů daných koncentrací kvantitativním přídavkem suspenzí nanočástic
- realizace DLS měření vzorků za definovaných podmínek
- výpočet relativních nanoviskozit roztoků polymerů

C) srovnat získané hodnoty relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity a formulovat předběžné závěry

D) prověřit alternativní postup přípravy vzorků pro DLS měření u polymeru P3

2 ÚVOD

V průběhu let prochází věda a technika neustálým vývojem. Pokroky lze pozorovat ve všech oborech, avšak z hlediska lidského zdraví má největší význam pokrok v oboru lékařských věd a farmacii. Přesto stále existují nemoci, které nedokážeme léčit. Proto je důležité zkoumat oblasti dosud nedostatečně prostudované.

Velký potenciál má jistě obor nanotechnologie, který je neustále v rozvoji. Význam pro farmacii má tento obor především v technologii nových lékových forem (např. nanotobolky, nanosféry, lipozomy, matricové nanočástice, nebo micely). Použití těchto forem je výhodné zejména tam, kde chceme docílit zvýšení účinnosti, cílené distribuce či zmírnění vedlejších účinků.

Z farmaceutického hlediska je však důležité nejen vytvářet výhodnější lékové formy a studovat vlastnosti léčivých látek, ale také zaměřit se na zkoumání látek pomocných, které mohou významně modifikovat účinek léčiva.

Na Katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v současné době probíhá výzkum, který využívá možnosti nanotechnologie k objasnění určitých zákonitostí týkajících se vlastností pomocných látek. Jednou z takových vlastností je i viskozita polymerních roztoků. Zejména na tuto tematiku se soustředí tato práce.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Nanotechnologie

Nanotechnologie mohou být definovány jako veškeré činnosti aplikované ve vztahu k materiálu v měřítku řádově nanometrů. Konkrétně lze vyměřit nanovelikost od 100 nm do velikosti atomu, což je zhruba 0,2 nm. Obor nanotechnologie zahrnuje produkci, charakterizaci, aplikaci nanočástic (dále jen NČ), včetně přístrojového vybavení a systémů řídících tvar a velikost NČ nebo přístrojů umožňujících sledování vlastností NČ. Pokroky v nástrojích, které dovolují studovat atomy a molekuly, přispívají k rozvoji nanověd a nanotechnologií.

Vlastnosti nanomateriálu se v mnohém liší od vlastností materiálů v běžné velikosti. Příčinou těchto odlišností je hlavně větší povrch NČ a kvantové efekty, které mají vliv na magnetické, optické a elektrické chování hmoty v nanorozměrech¹.

3.2 Nanomateriály

Na základě informací, získaných z výzkumných prací předních evropských expertů v oboru nanotechnologie, byla vytvořena klasifikace nanomateriálů, které se používají nebo se jejich použití předpokládá v některých průmyslových oborech. Nanomateriály jsou klasifikovány do sedmi hlavních kategorií².

3.2.1 Nanomateriály na bázi uhlíku

Uhlíkové nanotrubic se vyznačují pevností v tahu a různými elektrickými vlastnostmi. Mohou být vodiči, polovodiči nebo izolátory. Díky dobré elektronové emisi se předpokládá použití uhlíkových nanotubic ve velkoplošných obrazovkách nebo jako světelných zdrojů v elektronové mikroskopii. Jejich velký povrch lze využít pro skladování elektrické energie. V medicíně již byly nanotrubic použity jako jehly

k aplikaci účinné látky přímo do buňky. Tento proces by mohl být efektivní v terapii rakoviny².

3.2.2 Nanokompozity

V nanokompozitech je matrice z kovu, keramiky či polymeru plněna NČ různého druhu. Druhým typem jsou tzv. nano-nanokompozity, kde matrice i výplň je z NČ. Budoucí použití směřuje do oblasti energetiky, tzn. zlepšení vlastností elektrických kabelů, vodiče, uskladnění energie apod. Trend v medicíně je potom využití nanokompozitů při distribuci léčiv v organismu, v tkáňovém inženýrství, v diagnostice, v budoucnu také jako nanosenzory pod kůží².

3.2.3 Kovy a slitiny

Kovové NČ mají široké uplatnění. Ve zdravotnictví jsou nejvýznamnější NČ Ag díky svému antibakteriálnímu účinku. Velký povrch, vysoká pevnost a odolnost vůči korozi dávají kovovým NČ vysoké možnosti uplatnění v průmyslu, např. jako součásti nátěrových hmot, senzory, katalyzátory, dále ve stavebnictví, v elektronice nebo v informačních technologiích. Nejslibněji pro budoucí použití se jeví NČ Ti, Al, Mg, Au, Pt a jejich slitiny².

3.2.4 Biologické nanomateriály

Do této skupiny spadají materiály tělu vlastní (nukleové kyseliny, proteiny, hormony, vitaminy, apod.), ale i anorganické sloučeniny, které mohou být použity jako implantáty, biočipy či biosenzory. Ty se s výhodou používají v diagnostice k detekci a kvantifikaci genů, v proteomice, screeningu nebo při vývoji léčiv².

3.2.5 Nanopolymery

Nanopolymery jsou jedny z nejdůležitějších nanomateriálů pro budoucnost, zejména pro medicínu, energetiku a vědy zabývající se materiály. Dělí se na tzv. “self-assembly”^a a “non self- assembly” struktury².

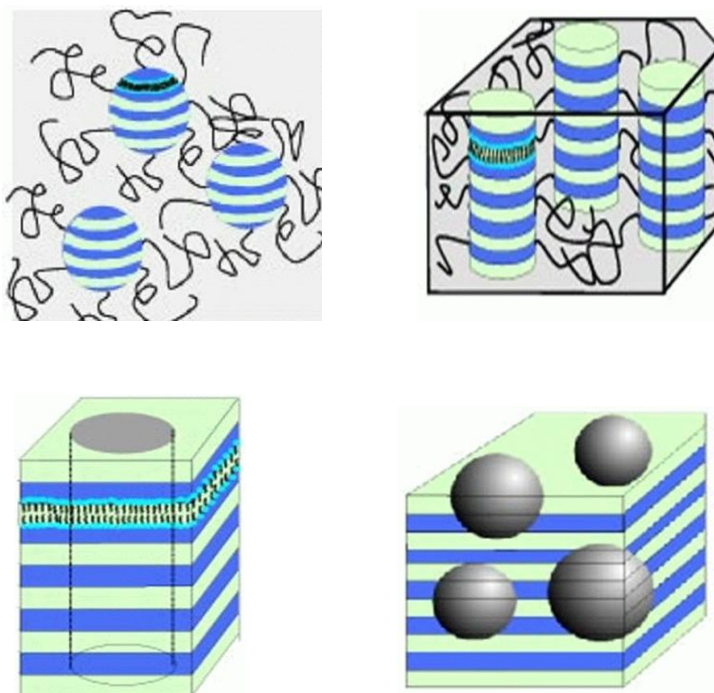
3.2.5.1 Self-assembly

Jedná se o proces, kdy se určité základní prvky samovolně sdružují do složitějších celků. Sestavování probíhá na základě přitažlivých a odpuzivých sil mezi molekulami. Tyto síly jsou nekovalentní a slabé. Příkladem jsou tenzidy, které se v závislosti na charakteru vehikula seskupují do sférických útvarů, zvaných micely³.

Nanopolymery se samovolně seskupují do struktur různých tvarů (**obr.1**):

- Lamelární
- Lamelární sféry
- Lamelární válce
- Válce v lamelách
- Sféry v lamelách²

^a Termín “self-assembly” nemá v češtině odpovídající ustálený výraz. Je překládán jako samosestavování, samoseskupování, sebeuspořádání, samoskládání, samosestavování apod. Pro účely této práce je použit originální anglický výraz “self-assembly”⁶



Obrázek 1 Znázornění tvarů “self-assembly” struktur nanopolymérů²

3.2.5.2 *Non-self assembly*

Struktury nazvané “non self-assembly” nevznikají samovolně, ale chemickou syntézou. Jejich vznik je podmíněn katalyzovanou reakcí. Jedná se o tyto polymerní struktury :

- Větvené polymery
- Dendrimery
- Polymerní kartáče
- Nanovlákná
- Nanokapsle
- Nanotrubic

3.2.6 Nanomateriály pro použití v optice

Pro optické účely lze použít amorfni i krystalické látky. Kromě nanomateriálů jsou důležité i aplikace a procesy probíhající na úrovni nanoměřítka. Z toho důvodu se

výzkum soustředí také na návrh optických nanosoučástek, jako např. čoček a difrakčních mřížek. Interakcí světla s nanostrukturami se zabývá nanooptika. Skutečnost, že za určitých podmínek existuje v okolí nanohmoty prostorově omezené optické pole předkládá další podnět ke studiu NČ².

3.2.7 Keramické nanomateriály

Velký význam v medicíně mají i keramické nanočástice. Jejich využití se předpokládá hlavně v oblasti ortopedie. Nanočástice hydroxyapatitu (HA) urychlují růst kostní hmoty. První poznatky byly zjištěny na kovovém implantátu pokrytém částicemi HA. V současné době se zkoumá praktické využití kostního implantátu přímo s obsahem HA, který by sloužil jako lešení pro tvorbu vlastní kostní tkáně. Navíc v kombinaci s nanostrukturními TiO_2 a Al_2O_3 dochází k zlepšení přilnavosti osteoblastů k implantátu a tím k urychlení hojení zlomenin⁴.

3.3 Nanotechnologie v medicíně a farmacii

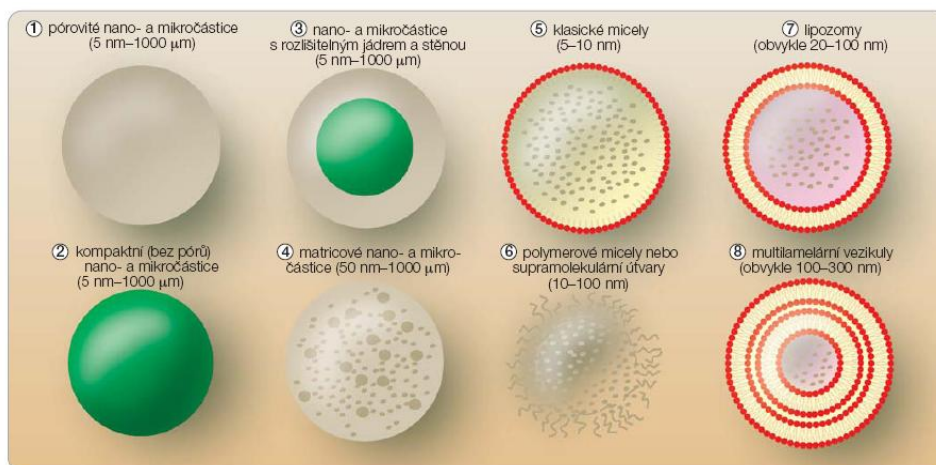
Nanomedicína je definována jako soubor věd a technologií využívaných pro diagnózu, terapii a prevenci chorob a traumatických poranění, utišení bolesti a pro ochranu a zlepšení lidského zdraví, používající molekulární nástroje a znalosti o lidském těle na molekulární úrovni. Již v současné době umožnila nanotechnologie znatelný pokrok v péči o zdraví. Jedním z hlavních cílů je včasná diagnóza rakoviny a její léčení⁶. Nanomedicína nabízí postupy, které umožňují cílený transport cytotoxické látky do ložiska nádoru s maximálním šetřením okolních tkání. Cytotoxickou látkou přitom nemusí být jen cytostatikum, rozvíjejí se koncepty spojené s radioterapií nebo senzitivací nádoru pro jiné vnější fyzikální faktory⁵.

V oboru farmacie má rozvoj nanotechnologií význam např. z hlediska aplikace moderních zobrazovacích a analytických metod vyvinutých pro zkoumání v nanometrických rozměrech, zlepšení identifikace a prověřování řízeného transportu nových léků do tkání, snížení doby identifikace nových léků, snížení objemu drahých činidel při provádění screeningu potenciálních léků, zlepšení zviditelňování interakce léků s tkáněmi⁶.

Mikročástice a nanočástice mohou sloužit jako nosiče pro transport některých obtížně vstřebatelných léčiv (perorálně podaný heparin, inzulin, hormony) do míst pro ně absorpčně přijatelnějších nebo mohou léčivou látku dopravit až do cíle jejího terapeutického působení. Je to právě subcelulární velikost těchto lékových mininosičů, která umožňuje transport léčiv do orgánů, tkání, buněk a nemocných částí těla, které zůstávají jiným lékovým formám nedostupné¹⁰. Některé nanometrické lékové formy (**obr.2**) jsou již používány v praxi, např. polymerní dendrimery s enkapsulovaným paklitaxelem k léčbě Kaposiho sarkomu⁷ nebo cisplatina aplikovaná ve formě nanolipozómů⁸.

Základem lipozómů je fosfolipidová membrána obalující prostor s vodnou fází (obr.2). V lipozómech mohou být transportovány hydrofilní i hydrofobní látky. Protože hůře transportují lipofilní látky, lze do lipozómu uzavřít např. C60 fullerenu^b, který je poměrně lipofilní. Vzniklá částice se někdy označuje jako buckyzóm.

Mezi další nanoformy s velkým potenciálem využití k transportu léčiv jsou využitelné i samotné fullereny, nanotrubičky, nebo již zmíněné keramické NČ⁵.



Obrázek 2 Příklady nanočásticových lékových forem¹⁰

^b Fullereny jsou duté kulovité struktury, složené z pěti- až šestičlenných uhlíkových kruhů. Jsou nazvány podle amerického architekta Fullera, který projektoval geodetické kopule podobného tvaru. Zatím nejstabilnější známý fullerén obsahuje 60 atomů uhlíku⁹

3.4 Vznik nanočástic

NČ se tvoří přirozeně nebo uměle zprostředkovaným rozpadem velkých struktur či řízeným procesem seskupování. Procesy formování NČ se odehrávají v plynné fázi, v kapalně fázi, v plazmě nebo ve vakuu. Může následovat úmyslné převedení nebo samovolný přechod NČ do jednoho či více vhodných kapalných medií¹¹.

3.4.1 Vznik v kapalně fázi

Formace NČ v kapalně fázi probíhá řízenou chemickou reakcí. Pro syntézu NČ jsou nejvíce používány mikroemulgace, proces vzniku reverzních micel a sprejová pyrolýza. Přirozeně se vyskytující procesy vzniku NČ zahrnují rozklad organického nebo geologického materiálu v přírodě¹¹.

3.4.2 Vznik v plynné fázi

Způsob vzniku v plynné fázi je velmi důležitý pro výrobu průmyslově využívaných NČ. Chemickou reakcí v plynné fázi dochází ke vzniku netěkavých produktů, které dále podstoupí homogenní nukleaci. Následuje kondenzace a růst. Tímto způsobem se získávají prášky NČ, které mohou být např. z kovů, oxidů, polymerů, a mohou mít různý tvar- kulovitý, trubicovitý, jehlovitý, destičkovitý apod. Narozdíl od kapalně fáze, kde lze NČ dispergovat v kapalině díky stabilizačním látkám, v plynné fázi může docházet k agregaci vlivem adhezivních sil mezi jednotlivými částicemi. Proto pokud nejsou dodrženy vhodné podmínky výroby, dochází ke vzniku částic v mikrometrickém a větším měřítku.

V přírodě se potom také NČ vyskytují v ovzduší. Příčinou je spalování dřeva, výfukové plyny, velkým producentem je i průmysl¹¹.

3.4.3 Vznik v prostředí plazmy

Nanočástice lze vyrobit i tepelným rozkladem halogenidů kovů v plazmě a organokovových sloučenin v plazmatu. Vyrobené částice jsou různých rozměrů, geometrických tvarů a chemického složení. Různé druhy nanočástic lze produkovat

pomocí dvou odlišných metod, které se mohou také kombinovat: termální rozklad a odpařování kovů. V současné době se úsilí zaměřuje na výstavbu specializovaných zařízení pro produkce nanočástic dobře definovaných vlastností¹².

3.4.4 Vznik ve vakuu

Jedna z technik výroby kovových nebo keramických nanočástic je kondenzace par. Jednotlivé přístupy se liší mediem, ve kterém se kondenzace odehrává. Kondenzace probíhá v kyslíkové atmosféře nebo je prostředí tvořeno inertními plyny¹³. Kov přiváděný do evakuované nádoby je vypařován za zvýšené teploty na atomy nebo klastry kovu, které jsou deponovány do vychlazeného organického rozpouštědla. Následné pomalé zahřívání tuhé směsi částic a rozpouštědla vede ke vzniku suspenze nanočástic¹⁴.

3.5 Nanosuspenze ve farmacii

Nanosuspenze jsou koloidní disperzní systémy částic menších než 1 μm , mohou být stabilizované přídavkem povrchově aktivní látky. V případě nanosuspenzí, používaných ve farmacii, je dispergovanou fází léčivá látka a disperzní fází vhodné vehikulum¹⁷.

Převedením hydrofobních léčiv do nanorozměrů se výrazně zvětší povrch částic a to vede k lepší rozpustnosti ve vodě a k lepší biologické dostupnosti¹⁵.

Léčiva ve formě nanosuspenze se pak mohou aplikovat parenterálně, tzn. od intraartikulárního podání přes intraperitoneální až po intravenózní aplikaci. V případě injekčního podání musí být léčivo plně rozpuštěno nebo musí dosahovat velikosti částic menší než 5 μm , aby se zabránilo ucpání krevních kapilár.

Aplikace nanosuspenzí může být v některých případech výhodnější než použití jinak upravených (např. použitím kosolventu, lipozomů, tvorbou komplexů s cyklodextriny apod.) těžce rozpustných léčivých látek. Příkladem je vyšší účinnost a stabilita nanosuspenze antileprotika clofaziminu než u lipozomů téhož léčiva v terapii infikovaných myších samiček¹⁶.

Nanosuspenze lze aplikovat i perorálně, pulmonálně, topicky nebo k cílené distribuci do tkání ve formě očních insertů nebo mukoadhesivních hydrogelů¹⁷.

3.5.1 Výroba nanosuspenzí

Existuje široká škála technik výroby NČ. V podstatě je lze rozdělit do dvou skupin podle základního principu vzniku. Jde o způsob výroby, kdy z větších celků vznikají mikronizací malé částice-nanočástice, které mohou být dispergovány ve vnější fázi. Takový způsob se nazývá “top-down” (shora-dolů)¹⁸. Příprava se pak koná několika způsoby. Může to být mletí, vysokotlaká homogenizace, superkritická fluidní metoda či emulzně-difuzní metoda²⁴.

Opačným typem výroby je způsob “bottom-up”(zdola-nahoru), kdy NČ vznikají z atomů nebo molekul samovolným shlukováním nebo cílenou syntézou. “Bottom-up” způsob spočívá v rozpuštění látky v rozpouštědle a následném převedení do kapaliny, v níž se látka nerozpouští, čímž dochází k precipitaci a tvorbě krystalků látky¹⁹.

3.5.2 Parametry nanosuspenzí a jejich měření

3.5.2.1 Velikost částic

Nejdůležitějšími parametry nanosuspenzí jsou velikost dispergovaných částic a tzv. index polydisperzity PI, který popisuje distribuci velikosti částic. PI je důležitý z hlediska fyzikálně-chemických vlastností jako je fyzikální stabilita, disoluční rychlost apod.

K určení velikosti částic a její distribuci v nanosuspenzi se využívá fotonová korelační spektroskopie (PCS) neboli dynamický rozptyl světla (DLS) nebo tzv. Coulterův počítač.

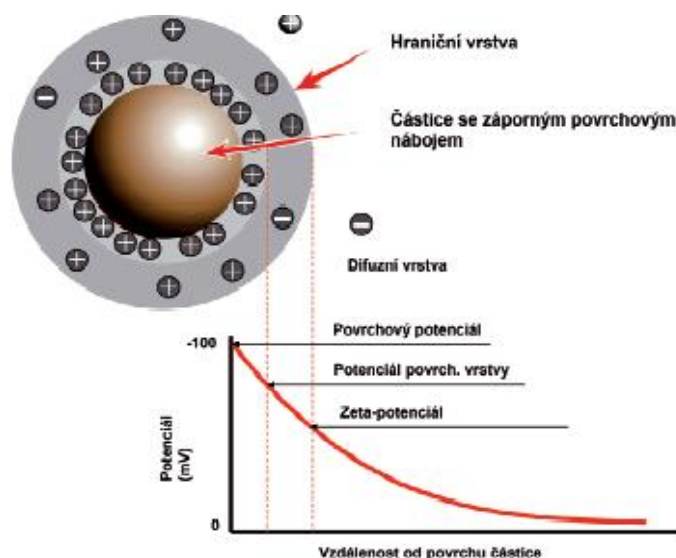
V případě Coulterovy metody jsou částice suspendované ve vodivém médiu. Tato kapalina je čerpána malým otvorem z jedné nádoby do druhé. V nádobách je rozdílná hladina kapaliny. V každé nádobě je ponořena jedna elektroda, které jsou spolu s baterií a rezistorem zapojeny do okruhu. Detekuje se změna impedance, která souvisí s přítomností částic v otvoru²⁰.

3.5.2.2 Zeta potenciál

Zeta potenciál je synonymum k elektrokinetickému potenciálu. Je to potenciál dvojvrstvy na rozhraní mezi částicí a okolním médiem (**obr.3**). Jinými slovy, je to potenciálový rozdíl mezi stacionární vrstvou tekutiny vázané na dispergované částici a difúzní částí dvojvrstvy. Je důležitým parametrem pro určení fyzikální stability nanosuspenzí.

Existují čtyři základní typy elektrokinetických jevů - elektroforéza, elektroosmóza, sedimentační potenciál a potenciál proudění. Všechny tyto jevy jsou současně využitelné pro určení hodnoty elektrokinetického potenciálu, nejčastěji se používá elektroforetických měření²¹.

Zeta potenciál lze určit také metodou dynamického rozptylu světla (DLS)²².



Obrázek 3 - Schéma Zeta-potenciálu částice v kapalině. Kromě něj jsou znázorněny i povrchový potenciál a potenciál povrchové adsorbované vrstvy²³

3.5.2.3 Krystalická struktura

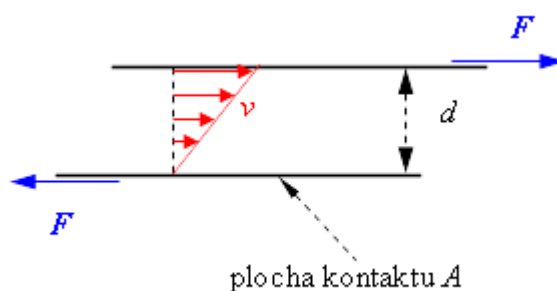
Vlivem vysokého tlaku při vysokotlaké homogenizaci může docházet ke změnám v krystalické struktuře látek. Velký podíl amorfni fáze může mít vliv na saturaci.

Ke zjištění změn v krystalické struktuře se využívá kombinace rentgenové difrakce s diferenciální skenovací kalorimetrií a elektronový mikroskop²⁴.

3.6 Viskozita

Viskozita neboli vazkost je fyzikální veličina, která charakterizuje vnitřní tření nebo může být také charakterizována jako brzdící síla²⁵, závislá především na přitažlivých silách částic v kapalině. Udává poměr mezi tečným napětím a změnou rychlosti v závislosti na vzdálenosti mezi sousedními vrstvami při proudění reálné kapaliny²⁶. Viskozita je funkce teploty a tlaku. V rámci měření viskozity rozlišujeme dva pojmy- viskozitu dynamickou a kinematickou.

Dynamická viskozita je důsledkem smykového napětí, vznikajícího mezi jednotlivými vrstvami kapaliny při jejím toku. Smykové (tečné) napětí je napětí působící ve směru tečny k namáhanému tělesu. Dynamická viskozita η je tangenciální síla připadající na jednotku povrchu a vyjádřená jako smykové napětí τ v pascálech (Pa). Je to síla potřebná k tomu, aby se dvě rovnoběžné vrstvy kapaliny o ploše 1 m² navzájem posunuly o vzdálenost 1 m rychlostí 1 m/s (**obr.4**). Rychlostní gradient dv/dy (rychlostní spád) udává smykový poměr D a vyjadřuje se v s⁻¹. Pro dynamickou viskozitu η platí vztah $\eta = \tau / D$ ²⁷.



Obrázek 4 Znáznornění posunu vrstev kapaliny o ploše A, vzdálených od sebe vzdáleností d, na které působí síla F, posun se děje rychlostí v ²⁸

V SI systému je jednotkou dynamické viskozity N.s/m^2 nebo Pa.s . V CGS^c systému je pro dynamickou viskozitu zavedena jednotka poise (P). Používají se ale menší jednotky cP a mPa.s, kdy $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa.s}$. Dynamickou viskozitu je možné definovat také jako sílu potřebnou v určitém médiu k posunu 1 kg za 1 s o 1 m . Jednotkou je proto také kg/m.s ²⁵.

Kinematická viskozita ν vyžaduje znalost hustoty ρ kapaliny při dané teplotě a tlaku. Je definována jako poměr dynamické viskozity η a hustoty²⁷.

$$\nu = \eta / \rho$$

Jednotka kinematické viskozity v SI soustavě je m^2/s , v CGS systému je to stokes (St). Pak platí, že $1 \text{ St} = 10^{-4} \text{ m}^2/\text{s}$. Častěji jsou však používány menší jednotky, a to mm^2/s ²⁷ či centistokes (cSt), pak platí $1 \text{ cSt} = 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ ²⁵.

Viskozita je důležitou charakteristikou tokových vlastností kapalin. Kapaliny, které se v oblasti laminárního proudění chovají podle Newtonova zákona viskozity (poměr tečného napětí a gradientu rychlosti, tedy dynamická viskozita, je konstantní) se nazývají newtonské kapaliny. Druhým typem jsou kapaliny nenewtonské, kdy smykový poměr je různý. Sem patří kapaliny dilatantní, pseudoplastické a plastické³⁰.

Většina kapalných lékových forem používaných ve farmacii je charakteru nenewtonských kapalin. Jedná se zejména o suspenze a emulze, kdy je správná viskozita nezbytná zejména pro zachování stability lékové formy. Kromě tekutých forem má viskozita význam také v technologii polotuhých topických přípravků, ale i při výrobě a použití již zmíněných emulzí, suspenzí a také čípků. Znalost reologických vlastností je nutná pro správnou výrobu, plnění do obalů, skladování, zajištění stability, aplikaci a spoustu dalších činností, které vedou k získání kvalitního léčivého či kosmetického přípravku.

3.6.1 Měření makroviskozity

Mikroviskozita, popř. nanoviskozita se značně liší od makroviskozity, proto i měřicí metody jsou odlišné. Měření makroviskozity je realizováno měřením tokových vlastností kapaliny. Kapalina je v tomto případě považována za jeden celek.

^c CGS je metrická soustava měrných jednotek zavedená Britskou asociací pokroku ve vědě. CGS je zkratka pro centimetr, gram a sekundu. Dříve byl tento systém hojně používán. Postupně byl však nahrazován SI soustavou. Lze se však stále ještě setkat s jednotkami CGS systému i v novějších textech²⁹.

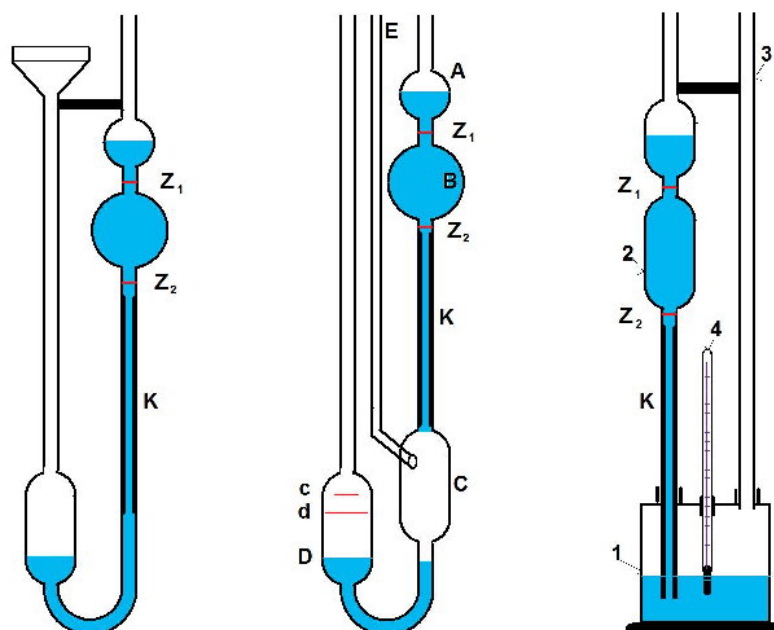
Při stanovení mikro- nebo nanoviskozity je důležitý proud kapaliny kolem jednotlivých částic rozptýlených v kapalině³⁵.

Makroviskozitu lze změřit několika způsoby. Kapilární viskozimetry využívají platnost Hagen- Poiseuilleova zákona při laminárním proudění kapilárou o poloměru r a délce ℓ :

$$\eta = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot \Delta p \cdot \tau}{8 V \cdot \ell}, \text{ kde } \Delta p \text{ je rozdíl tlaků, daný hydrostatickým tlakem kapaliny}$$

ve vvislé kapiláře, který je úměrný hustotě kapaliny, V objem kapaliny, který proteče kapilárou za čas τ ³¹.

U kapilárních viskozimetrů se měří objemový průtok kapaliny. Výtok měřené kapaliny z kapiláry (K) se děje buď do prostředí vyplněného kapalinou-tzv. Ostwaldovo provedení, nebo kapalina vytéká do volného prostoru, který je zvláštním otvorem spojen s atmosférou-provedení Ubbelohdeho. Ostwaldův kapilární viskozimetr a viskozimetr Vogel-Ossag jsou opatřeny odsávacím zařízením, kterým se hladina zkoušené kapaliny zvedne nad značku Z_1 . Po odpojení pumpy se měří doba průtoku mezi značkami Z_1 a Z_2 . Součástí viskozimetru Vogel-Ossag je navíc teploměr (**obr.5**). Typem viskozimetru s nuceným průtokem je viskozimetr opatřený pístem, který protlačuje kapalinu kalibrovanou ocelovou kapilárou. Viskozita vzorku je stanovena z naměřené tlakové difference³².



Obrázek 5 Zleva Ostwaldův kapilární viskozimetr, Ubbelohdeho kapilární viskozimetr a viskozimetr Vogel-Ossag³²

Pro laboratorní účely je nejčastěji používán skleněný Ubbelohdeho kapilární viskozimetr. Stanovení viskozity pomocí vhodného kapilárního viskozimetru se provádí při teplotě $(20 \pm 0,1)^\circ\text{C}$, není-li předepsáno jinak. Čas potřebný k tomu, aby hladina kapaliny klesla od jedné značky (Z1) ke druhé (Z2), se měří stopkami s přesností na jednu pětinu sekundy. Měření je platné, pokud se dvě po sobě jdoucí měření neliší o více než 1%. Vypočítá se průměr nejméně ze tří měření doby průtoku zkoušené kapaliny²⁷.

Kromě kapilárních viskozimetrů lze k měření viskozity použít i rotační viskozimetry, které se používají pro měření viskozity newtonských i nenewtonských kapalin. Principem metody je měření síly působící na rotor, který se otáčí při konstantní úhlové rychlosti v kapalině. Rotační viskozimetry jsou k dispozici v různých typech, se soustřednými válci, viskozimetry kužel-deska nebo vřetenové viskozimetry.

Ke stanovení kinematické viskozity newtonských kapalin se také používají tělískové viskozimetry. Tělískem je nejčastěji kulička. Stanovuje se čas potřebný k tomu, aby testovací kulička o známé hustotě spadla ve zkoušené kapalině od jedné kruhové značky ke druhé²⁷. Nejjednodušším tělískovým viskozimetrem je Stokesův viskozimetr. Jedná se o skleněný válec se dvěma ryskami. Stanovovanou kapalinou ve válci prochází kulička o známé hustotě. Na stejném principu pracuje i Höpplerův viskozimetr. Jedinou odlišností je, že kulička padá ve skleněné trubici skloněné od vertikály o 10° ³².

Novým typem viskozimetru je vibrační viskozimetr, který umožňuje měření nenewtonských kapalin, koloidních roztoků, gelů, ale i pěnivých roztoků. Metoda je založena na detekci elektrického proudu nutného k rezonanci dvou snímacích destiček³³.

Pro technické použití jsou vhodné výtokové pohárky. Slouží ke zjištění viskozity barev, laků a podobných produktů. Hodnotí se čas, za který proteče testovaný obsah pohárku skrze trysku³⁴.

3.7 Mikrореologie

Mikrореologie je odvětví reologie, které se zabývá studiem reologických vlastností materiálů (plynů a kapalin). Jednou z takových vlastností je i mikroviskozita³⁵.

Podle Navier-Stokesovy rovnice viskozita kapaliny není závislá na velikosti tělesa, které se v ní pohybuje. Donedávna panovalo přesvědčení, že velké těleso, jako je např. letadlo pohybující se vzduchem bude pocítovat viskozitu okolního prostředí ve stejných řádech jako např. proteinová částice v buňce. Experimentálně však bylo zjištěno, že to tak není. Částice mikroskopických rozměrů pocítují viskozitu o mnoho řádů nižší než makroskopické objekty. Z toho plyne skutečnost, že velikost částic je zásadní v každém hydrodynamickém systému. Se zmenšujícím se měřítkem velikosti částic se mění i makroviskozita na mikroviskozitu a v případě nanočástic až na nanoviskozitu^{36,37}.

Znalost závislosti viskozity na velikosti částic v nanometrickém měřítku je důležitá hlavně z hlediska objasnění některých zákonitostí v biologických systémech (např. v živé buňce), ale také v průmyslových oblastech, zejména v potravinářství, kosmetice, chemickém a farmaceutickém průmyslu³⁷.

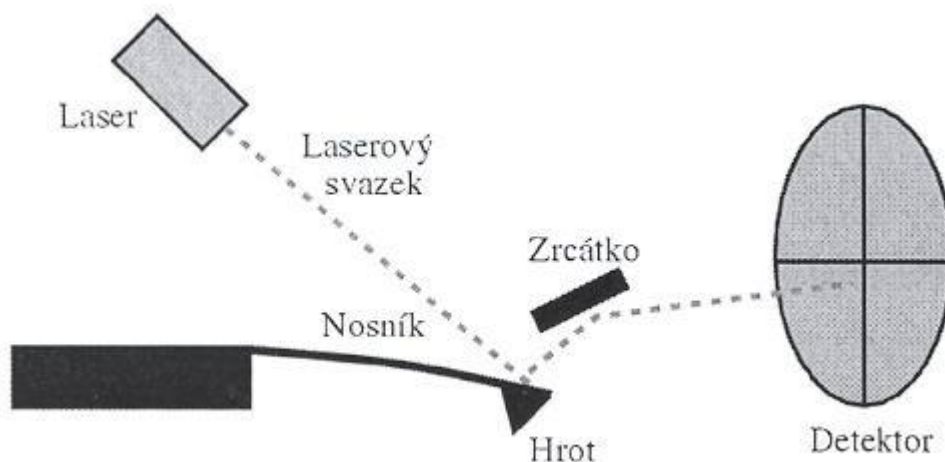
3.7.1 Mikrореologické metody

Mikrореologické metody jsou klasifikovány jako aktivní nebo pasivní v závislosti na tom, zda monitorují volný nebo řízený pohyb částic. Aktivní metody pozorují vliv mikročástice na vnější silové pole. Obě metody vztahují trajektorii částic k viskoelastickým vlastnostem okolního prostředí³⁵.

Mezi aktivní metody se řadí měření reologických vlastností systémů pomocí magnetických částic, které se vkládají do roztoku jako sondy. Působením magnetického pole se částice pohybují. Parametry tohoto pohybu vypovídají o viskozitě okolního prostředí.

Viskoelastické vlastnosti materiálu lze zjistit také mikroskopií atomárních sil (AFM- z anglického Atomic Force Microscopy). AFM využívá mechanického působení

mezi vzorkem a nosníkem (“cantilever”) s hrotem (“contact mode”)(**obr.6**). Na nerovnosti povrchu vzorku dochází k vychýlení hrotu. Výchyly jsou detekovány mikroskopem a na jejich základě je vyhodnocen trojrozměrný obraz vzorku. Pokud dochází k přímému dotyku hrotu se vzorkem, je metoda vhodná pro tvrdé materiály, kde nedochází k poškození vzorku hrotem. Druhým způsobem, bezdotykovým (tzv. “non-contact mode”) , lze měřit vzorek měkký, který může být i kapalný, např. při studiu nukleových kyselin v nativním prostředí^{38, 39}.



Obrázek 6 Princip měření metodou AFM³⁹

Pasivní metody sledují termodynamický pohyb jednotlivých mikroskopických částic suspendovaných v roztoku. Pasivní metodu lze aplikovat pouze u materiálů, kde se uplatňuje Brownův pohyb. Pro detekci pohybu se do roztoku vkládají chemicky inertní sférické částice o velikosti v řádu mikrometrů až několika nanometrů, tzv. nanosondy. Tyto nanosondy, jak již bylo řečeno, se pohybují Brownovým pohybem, který je měřitelný jako tzv. difúzní koeficient. K takovému měření lze s výhodou použít metodu DLS⁴⁰.

3.8 Dynamický rozptyl světla (DLS)

Dynamický rozptyl světla (DLS) je metoda také známá jako fotonová korelační spektroskopie (PCS) nebo také kvasielastický rozptyl světla (QELS) . Tato metoda má je významná při určování velikosti mikro až nanoskopických částic v disperzní soustavě, ale také při zjišťování některých fyzikálních veličin.

3.8.1 Princip měření

Částice suspendované v kapalině se pohybují vlivem náhodných nárazů molekul disperzního prostředí. Neuspořádaný pohyb částic je nazván podle svého objevitele, skotského botanika Roberta Browna, tzn. Brownův pohyb. Tento pohyb je tím intenzivnější, čím jsou částice menší a čím je vyšší teplota. Projevem Brownova pohybu je difúze. Vztah mezi difúzním koeficientem, koeficientem tření a absolutní teplotou vyjadřuje Einsteinova rovnice⁴¹ :

$$D = \frac{kT}{B}$$

D difúzní koeficient

kBoltzmanova konstanta

Tabsolutní teplota

Bkoeficient tření

Pro sféricky symetrickou částici o poloměru r pak pro koeficient tření B platí Stokesova rovnice⁴¹:

$$B = 6\pi\eta r$$

η dynamická viskozita kapaliny

Vztah mezi velikostí částice a její rychlostí je tedy popsán Stokes- Einsteinovou rovnicí:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}$$

Z výše uvedeného vzorce vyplývá, že pohyb částic v kapalině je přímo úměrný teplotě prostředí a nepřímo úměrný viskozitě kapaliny a velikosti částic⁴².

Velké částice se pohybují rychle, malé pomalu. Princip DLS je tedy založen na korelaci mezi difúzním koeficientem a velikostí částic.

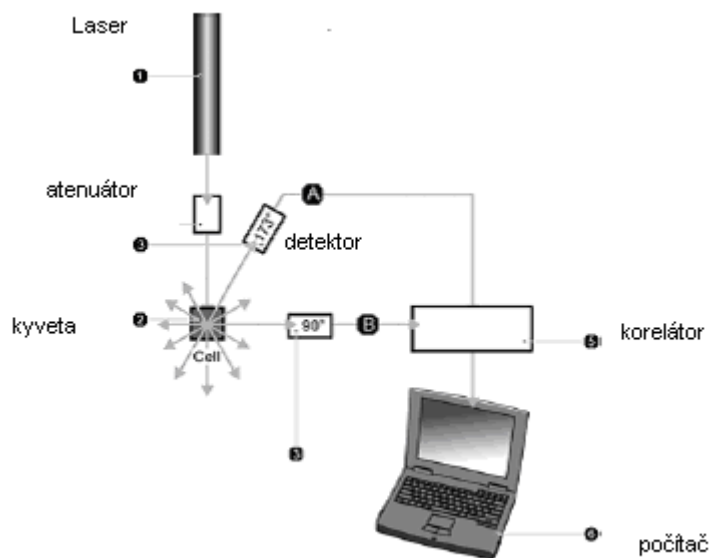
Difúzní koeficient není závislý pouze na velikosti částic, ale také na iontové síle media, povrchové struktuře a na tvaru částic. Ionty přítomné v médiu a celková koncentrace těchto iontů mohou ovlivňovat difúzní rychlost částic změnou elektrické dvojvrstvy kolem částice. Při nízké vodivosti média bude dvojvrstva iontů v okolí částice širší, proto i hydrodynamický průměr se zvětší a částice se bude pohybovat pomaleji. Ve vodivém médiu je potom iontová dvojvrstva potlačována a tak i průměr částice bude menší a pohybovat se bude rychleji.

Snížení rychlosti pohybu může mít také příčinu ve vyčnívání polymerních řetězců z povrchu částice. Pokud polymer netvoří přímo povrchovou vrstvu, ale vyčnívá ven, zvětší se tak velikost částice a i s ní spojený difúzní koeficient.

Sférické částice jsou jediné objekty, jejichž velikost lze popsat jedním údajem. U částic nesférických se za hydrodynamický průměr považuje průměr sféry, která má stejnou difúzní rychlost jako částice. Výsledná velikost nesférických částic se proto může lišit od velikosti zjištěné jinými metodami⁴³.

3.8.2 Přístrojové vybavení

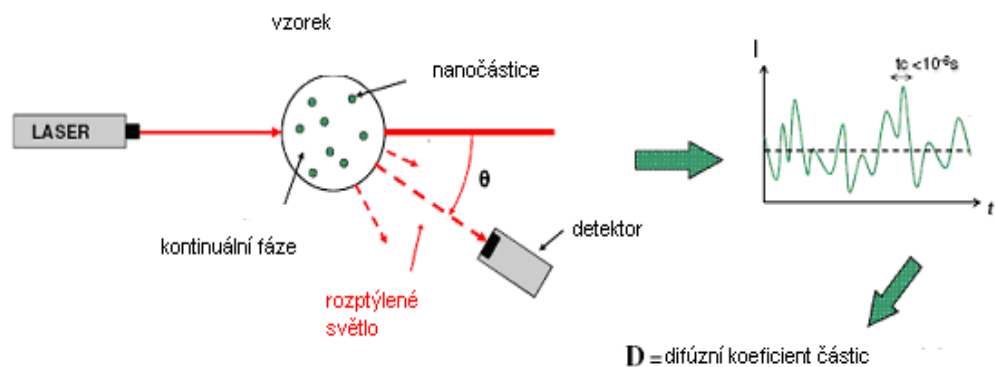
Systém měření laserovou difrakcí se skládá z šesti základních komponent (**obr.7**). Jako zdroj světelného paprsku je použit laser. Paprsek, zredukovaný atenuátorem (zeslabovačem), prochází kyvetou se vzorkem. Částice ve vzorku rozptylují světlo z laseru ve všech směrech. Toto rozptýlené světlo je zachycováno specificky umístěným detektorem. Difrakční obrazec je předáván do korelátoru, který je ve spojení se softwarovým systémem. Počítač z informací, zpracovaných korelátozem, vyhodnocuje výsledky²².



Obrázek 7 Uspořádání měřicího systému pro měření pod úhlem 173°C (A) nebo pod úhlem 90°C (B) ²²

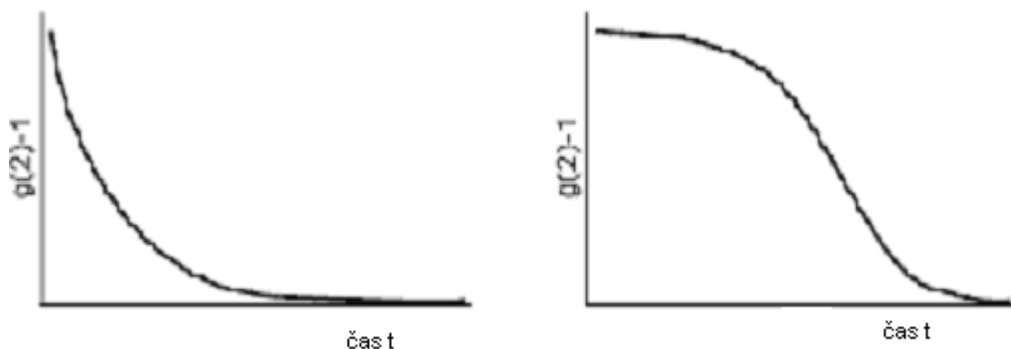
3.8.3 Korelační funkce

Díky monochromatickému světlu, jako je laser, kterým je osvětlena částice, lze analyzovat intenzitu pohybu částic v rozptýleném světle. Elektrické pole světelného paprsku indukuje polarizaci elektronů v molekulách a tím se částice stává sekundárním zdrojem světla. Vlnová délka paprsku, který dopadá na pohybující se částici, je změněna vlivem Dopplerova jevu. Změna frekvence, úhel odrazu, polarizace a intenzita rozptýleného světla také závisí na velikosti částic, tvaru částic a interakcích mezi molekulami ve vzorku²².



Obrázek 8 Ilustrace principu měření metodou DLS⁴⁴

Pro metodu měření velikosti částic metodou DLS je nejdůležitějším parametrem intenzita světla paprsku rozptýleného částicí (**obr.8**). Právě díky Brownovu pohybu intenzita rozptýleného světla kolísá. Velké částice se pohybují pomalu, proto i intenzita bude méně kolísat než u částic malých. Jednou z možností je přímo sledovat spektrum frekvencí, obsahující kolísání intenzity, vycházející z Brownova pohybu částic. Efektivnějším způsobem je však použití zařízení nazvané digitální autokorelátor. Pracuje na principu srovnávání dvou signálů v různých časových intervalech, které jsou velmi malé, v řádu nanosekund až mikrosekund. Na základě toho přístroj vypracovává grafy - korelogramy. Křivka korelogramu je exponenciála. V případě monodisperzních soustav o přibližně stejné velikosti částic, bude vypadat exponenciála dle **obr.9**. Strmější pro malé částice než pro částice velké^{22,43}.



Obrázek 9 Korelogramy- vlevo pro malé částice, vpravo pro velké částice ²²

3.9 Polymery

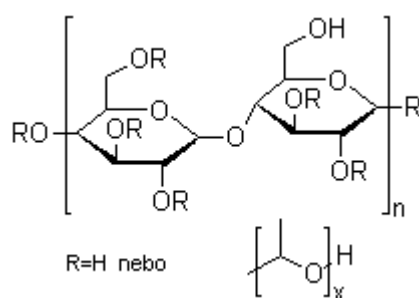
3.9.1 Hyprolosa (HPC)

Synonyma HPC jsou hydroxypropylcelulóza, Klucel, Methocel, hydroxypropylether celulózy (**obr.10**).

Částečně O-(2-hydroxypropylovaná) celulóza je bílý nebo žlutobílý prášek nebo granule, které jsou po vysušení hygroskopické. Je dobře rozpustná ve studené vodě, v ledové kyselině octové, v bezvodém ethanolu, v methanolu a dichlormethanu za vzniku koloidních roztoků²⁷.

Ve vodě do 38 °C se dobře rozpouští za vzniku hladkých, čirých, koloidních roztoků. V horké vodě je nerozpustná, precipituje.

HPC je široce používána ve farmaceutické technologii ve vnitřních i topických formách jako viskozifiant ke stabilizaci suspenzí a emulzí, pojivo tablet, součást tablet s řízeným uvolňováním, v transdermálních náplastech, ale i v očních přípravcích. Kromě farmacie je HPC také využívána v kosmetickém a potravinářském průmyslu⁴⁵.



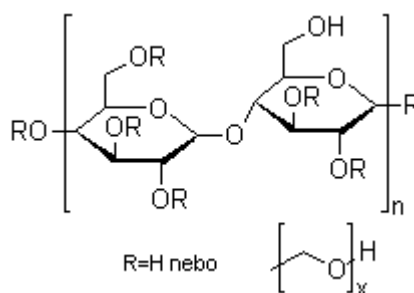
Obrázek 10 Hydroxypropylcelulóza⁴⁶

3.9.2 Hyetelosa(HEC)

Synonyma jsou hydroxyethylcelulóza, hydroxyethyléter celulózy, Natrosol nebo ethylóza (**obr.11**).

Částečně O-(2-hydroxyethylovaná) celulóza je bílý, žlutobílý nebo šedobílý prášek nebo granule, dobře rozpustné v horké a ve studené vodě za vzniku koloidního roztoku, je prakticky nerozpustná v acetonu, v ethanolu 96 % a v toluenu²⁷.

Ve farmacii se tento polymer používá jako zahušťovadlo v očnících a topických přípravcích, pojivo tablet, jako lubrikant pro suché oči a sliznici úst nebo k péči o kontaktní čočky⁴⁵.



Obrázek 11 Hydroxyethylcelulóza⁴⁷

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

Název	Výrobní číslo	Výrobce
Polymer P1 ($\eta = 4300 \text{ mPa.s}$)*		Hercules, Zwijndrecht, Nizozemsko
Polymer P2 ($\eta = 1950 \text{ mPa.s}$)*		Hercules, Zwijndrecht, Nizozemsko
Polymer P3 ($\eta = 2660 \text{ mPa.s}$)*		Hercules, Zwijndrecht, Nizozemsko
Suspenze PS nanosfér. nanočástic 20 nm	33496	Duke Scientific Corporation, Palo Alto, USA
Suspenze PS nanosfér. nanočástic 60 nm	33237	Duke Scientific Corporation, Palo Alto, USA
Suspenze PS nanosfér. nanočástic 100 nm	33115	Duke Scientific Corporation, Palo Alto, USA
Aqua pro injectione		Ardeapharma, a.s., Ševětín, ČR

* η je viskozita 1% roztoku při 20 °C deklarovaná výrobcem.

Výše uvedené suroviny odpovídaly deklarované jakosti podle platných norem výrobců, resp. dodavatelů.

Z důvodu ochrany cenných informací před zneužitím jinými osobami k vlastnímu užitku jsou jednotlivé použité polymery označeny jako P1, P2 a P3. Konkrétní názvy a výrobní čísla jsou k dispozici u autorky práce nebo vedoucího práce.

4.2 Přístroje a pomůcky

Název	Typ	Výrobce
Předvážky	KERN 440-45N	Kern & Sohn, Balingen, Německo
Analytické váhy	Ohaus Pioneer	Ohaus corp., Pine Brook, USA
Vodní lázeň	GRANT JB5	Grant Instruments Limited, Cambridge, Anglie
Termostat	Biological Thermostat BT 120	Laboratorní přístroje, Praha, ČR
Minitřepačka	IKA MS 3 Digital	IKA [®] Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Německo
Magnetická míchačka	Hotplate magnetic stirrer 34532	Snijders, Tilburg, Nizozemsko
Mikropipeta	Transferpette S 20- 200 µl	Brand, Wertheim, Německo
Jednorázové kyvety	Macro PS	Brand, Wertheim, Německo
Ubbelohdeho kapilární viskozimetry	0a, I, Ia, IIa	Sklárny Kavalier, Držkov, ČR
Pyknometry		Sklárny Kavalier, Držkov, ČR
Zetasizer	Nano ZS	Malvern, UK
Lednice		Liebherr, Ochsenhausen, Německo
Fotoaparát	Canon Powershot A540	Canon, Selangor, Malaysie

4.3 Příprava vzorků pro DLS měření

4.3.1 Postup přípravy vzorků pro DLS měření

Pro DLS měření byly připraveny vzorky tří různých polymerů, označených jako **P1**, **P2** a **P3**. Všechny vzorky byly připraveny stejným způsobem. Vzorky z polymeru **P3** byly navíc připraveny alternativním způsobem přípravy (4.3.2). Celkem byly tedy připraveny 4 základní roztoky polymerů.

4.3.1.1 Příprava základních koloidních roztoků

Do vytárované kádinky s míchadlem bylo naváženo 49,75 g vody pro injekce (dle **tab.1**). Pro přípravu základních roztoků polymerů **P1** a **P2** byla kádinka s vodou umístěna na 15 min. do lednice, v případě polymeru **P3** byl polymer vmíchán do vody o laboratorní teplotě. Za stálého míchání na magnetické míchače bylo do vody postupně dispergováno 0,25 g polymeru. Pro zabránění odpaření rozpouštědla a tím také nežádoucím změnám koncentrace vzorku, byla kádinka uzavřena Parafilmem. Kádinka s roztokem polymeru byla ponechána v termostatu při teplotě 37 °C do druhého dne, aby polymer zcela nabobtnal.

Surovina	Množství (g)
Voda pro injekce	49,75
Polymer	0,25

Tabulka 1 Složení základního koloidního roztoku polymeru

4.3.1.2 Příprava koloidních roztoků o nižších koncentracích

Základní roztoky o koncentraci 0,5 % byly dále postupně ředěny vodou pro injekce na koncentrace 0,25 %; 0,125 %; 0,0625 %; 0,03125 % dle **tab. 2**.

Jednotlivá ředění byla prováděna v označených kádinkách za důkladného promíchání na magnetické míchačce.

Koncentrace polymeru	Množství roztoku polymeru	Množství vody
0,25 %	25 g 0,5 %	25 g
0,125 %	25 g 0,25 %	25 g
0,0625 %	25 g 0,125 %	25 g
0,03125 %	25 g 0,0625 %	25 g

Tabulka 2 Složení koloidních roztoků polymerů daných koncentrací

4.3.1.3 Příprava kyvet

Pro DLS měření byly použity jednorázové polystyrenové kyvety. Před použitím byly vypláchnuty vodou, zfiltrované bakteriálním filtrem (0,22 μ m), a osušeny odstředivou silou. Jednotlivé kyvety byly označeny kódem, který vyjadřoval druh použitého polymeru, jeho koncentraci a velikost přidaných NČ.

4.3.1.4 Příprava vzorků

Do předem připravených, vytárovaných kyvet byl navážen 1 g roztoku polymeru. K polymeru bylo přidáno mikropipetou 20 μ l suspenze NČ. Kyvety byly uzavřeny Parafilmem a 10 vteřin promíchávány na minitřepačce při otáčkách 1000-1500 ot./min. Tímto způsobem byly vytvořeny řady vzorků příslušných koncentrací všech polymerů s 20nm nebo 60nm nebo 100nm NČ. Pro DLS měření bylo tedy připraveno 15 vzorků od každého typu polymeru. Kyvety se vzorky byly temperovány 1 hod v termostatu při 37°C, kde byly dále uchovávány po celou dobu průběhu měření ostatních vzorků.

4.3.2 Alternativní postup přípravy vzorků pro DLS měření

Alternativní způsob přípravy byl uplatněn u polymeru **P3**, protože při přípravě prvním způsobem se ve vzorcích vytvořily pouhým okem viditelné shluky NČ (viz **5.4** a **5.5**). Pro vzorky, připravené tímto způsobem přípravy, bylo zavedeno označení P3a.

4.3.2.1 Příprava základního koloidního roztoku

Narozdíl od předchozího postupu, kde je základní roztok 0,5%, byl při alternativní přípravě jako základní použit roztok o 1% koncentraci. Bylo připraveno 10 g 1% roztoku, který byl temperován v termostatu při 37 °C do druhého dne. Z něj byly dále ředěny roztoky o koncentracích 0,5 %; 0,25 %; 0,125 %; 0,0625 % a 0,03125 % (dle **tab.4**). Specifikum alternativního postupu spočívá v tom, že ředění bylo prováděno už přímo disperzí NČ ve vodě pro injekce.

4.3.2.2 Příprava koloidních roztoků o nižších koncentracích

Nejprve byly připraveny koloidní disperze NČ ve vodě s označením D1 a D2 (**tab.3**). K 5g základního 1% roztoku polymeru bylo za stálého míchání na magnetické míchačce přidáno 5 g disperze D1, čímž vznikl 0,5% roztok polymeru s obsahem 20 µg suspenze NČ (tak jako v původním postupu přípravy **4.3.1**). Stejný postup byl proveden i pro přípravu nižších koncentrací, ale ředění už bylo prováděno disperzí D2 (dle **tab.4**). Disperze D1 a D2 byly připraveny ze suspenzí 20nm nebo 60nm nebo 100nm NČ. Z každé z nich byla potom připravena opět celá řada vzorků o jednotlivých koncentracích. Takto připravené vzorky byly 1 hodinu temperovány v termostatu při 37° C.

Pro DLS měření byl navážen 1 g každého vzorku do předem připravených kyvet (dle **4.3.1.3**). Výsledkem bylo tedy 15 vzorků připravených alternativním způsobem.

Označení	Suspenze NČ [g]	Voda pro injekce [g]
D1	0,2	4,8
D2	0,4	19,6

Tabulka 3 Složení disperzí NČ

Koncentrace polymeru	Množství roztoku polymeru	Množství disperze NČ
0,5 %	5 g 1 %	5 g D1
0,25 %	5 g 0,5 %	5 g D2
0,125 %	5 g 0,25 %	5 g D2
0,0625 %	5 g 0,125 %	5 g D2
0,03125 %	5 g 0,0625 %	5 g D2

Tabulka 4 Složení roztoků polymeru daných koncentrací

4.3.3 Příprava kontrolních vzorků

Jako kontrolní vzorek byla použita koloidní disperze NČ ve vodě. Příprava a plnění do kyvet proběhla stejným způsobem jako příprava vzorků z roztoků polymerů.

4.4 Měření DLS

Měření bylo provedeno u 45 vzorků polymerů, připravených prvním způsobem, u 15 vzorků připravených alternativním způsobem a 3 kontrolních vzorků NČ ve vodě.

Pro měření DLS byly použity jednorázové PS kyvety. Do Zetasizeru byly vkládány hladkou stranou ke zdroji paprsku. Měření bylo prováděno za definovaných podmínek. Vzorky byly nejprve v přístroji 5 min temperovány na teplotu 37 °C a poté automaticky třikrát po sobě proměřeny. Jako disperzní prostředí byla v systému Dispersion Technology Software v5.10 nastavena voda (Water - Malvern), jako

dispergovaný materiál PS latex (Polystyrene latex - Malvern). Ostatní parametry byly ponechány na přednastavených automatických hodnotách.

4.5 Stanovení hustoty pyknometricky

Hustota roztoků polymerů byla stanovena pomocí tří pyknometrů pro koncentrace 0,5 %, 0,125 % a 0,03125 %. Na analytických vahách s přesností vážení na 0,001 g byl zvážen prázdný vysušený pyknometr i se zábrusovou zátkou. Jeho hmotnost byla zaznamenána. Poté byl stejný pyknometr naplněn destilovanou vodou, uzavřen zátkou, temperován 10 min ve vodní lázni na 37°C. Zátkou, v které je kapilární otvor, byla vytlačena voda, která byla osušena tak, aby hladina vody v kapiláře byla souběžně s okrajem zátky. Poté byl pyknometr zvážen. Stejným způsobem byl naplněn, temperován a zvážen i tentýž pyknometr s roztokem polymeru. Pro výpočet byla použita hustota vody při 37 °C 0,99337 g/cm³⁴⁸.

$$\rho = \frac{(m_3 - m_1) \cdot \rho_{voda}}{m_2 - m_1}$$

Rovnice 1 Vztah pro výpočet hustoty roztoku polymeru

m_3hmotnost pyknometru s roztokem polymeru

m_2hmotnost pyknometru s vodou

m_1hmotnost prázdného pyknometru

ρ_{voda}hustota vody při 37°C

ρhustota roztoku polymeru

4.6 Stanovení relativní makroviskozity

Kinematická viskozita byla stanovena Ubbelohdeho kapilárním viskozimetrem. Naplněný viskozimetr byl temperován ve vodní lázni na 37 °C minimálně po dobu 30 min. Čas průtoku zkoušeného roztoku mezi ryskami viskozimetru byl měřen

stopkami s přesností na sekundy. Kinematická viskozita byla získána jako součin konstanty použitého viskozimetru k a naměřeného času t v sekundách. Byl vypočítán průměr hodnot ze tří měření. Násobením kinematické viskozity ν hustotou vody ρ_{voda} byla vypočítána dynamická viskozita η_i . Pro výpočet byla použita hustota vody ρ_{voda} při 37 °C 0,99337 g/cm³⁴⁸.

Relativní makroviskozita η_{rel} byla vypočítána jako podíl dynamické viskozity roztoku polymeru η_i a viskozity vody η_0 (dle rovnice 2). Viskozita vody při 37 °C $\eta_0=0,692$ mPa.s⁴⁸.

$$\eta_{rel} = \frac{\eta_0}{\eta_i}$$

Rovnice 2 Vztah pro výpočet relativní makroviskozity

4.7 Stanovení relativní nanoviskozity

Relativní nanoviskozita η_{Nrel} byla vypočítána jako podíl difúzního koeficientu NČ ve vodě D_0 a difúzního koeficientu NČ v roztoku polymeru D_i (rovnice 3). Difúzní koeficienty byly zjištěny měřením vzorků metodou DLS.

$$\eta_{Nrel} = \frac{D_0}{D_i}$$

Rovnice 3 Vztah pro výpočet relativní nanoviskozity

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Hustota

Hustota roztoků polymerů P1, P2 a P3 v koncentracích 0,5 %, 0,125 %, 0,03125 % byla stanovena pyknometricky. Naměřené hodnoty, průměry a směrodatné odchylky ($n=3$) jsou uvedeny v **tab.5-7**.

koncentrace polymeru [%]	hustota [g/cm ³] 1.	hustota [g/cm ³] 2.	hustota [g/cm ³] 3.	průměr [g/cm ³]	SD [g/cm ³]	RSD [%]
0,5	0,9951	0,9953	0,9964	0,9956	0,0007	0,07
0,125	0,9932	0,9958	0,9954	0,9948	0,0014	0,14
0,03125	0,9937	0,9939	0,9931	0,9936	0,0004	0,04

Tabulka 5 Hustota roztoků polymeru P1- hodnoty, průměry a směrodatné odchylky

koncentrac e polymeru [%]	hustota [g/cm ³] 1.	hustota [g/cm ³] 2.	hustota [g/cm ³] 3.	průměr [g/cm ³]	SD [g/cm ³]	RSD [%]
0,5	0,9942	0,9942	1,0092	0,9992	0,0086	0,86
0,125	0,9926	0,9928	0,9817	0,9890	0,0063	0,64
0,03125	0,9923	0,9918	0,9926	0,9922	0,0004	0,04

Tabulka 6 Hustota roztoků polymeru P2- hodnoty, průměry a směrodatné odchylky

koncentrace polymeru [%]	hustota [g/cm ³] 1.	hustota [g/cm ³] 2.	hustota [g/cm ³] 3.	průměr [g/cm ³]	SD [g/cm ³]	RSD [%]
0,5	0,9947	0,9963	0,9966	0,9959	0,0010	0,10
0,125	0,9943	0,9947	0,9935	0,9942	0,0006	0,06
0,03125	0,9943	0,9947	0,9929	0,9940	0,0009	0,10

Tabulka 7 Hustota roztoků polymeru P3- hodnoty, průměry a směrodatné odchylky

Všechny pyknometricky naměřené hodnoty hustot byly pro jednotlivé polymery porovnány nepárovým t-testem s tabulkovou hodnotou hustoty vody při 37 °C ($\rho_{\text{voda}} = 0,99337 \text{ g/cm}^3$) v programu GraphPad Prism v.5.02. Se spolehlivostí $p = 0,95$ bylo

zjištěno, že se od ní ve většině případů statisticky významně neliší. Navíc ve dvou případech měly naměřené hodnoty hustot větší rozpětí (polymer P2 v koncentracích 0,5 %, 0,125 %) což mohlo být způsobeno nepřesností měření.

Proto, aby do dalších výpočtů nebyla zanesena chyba měření pyknometrického stanovení hustot, bylo dále počítáno s tabulkovou hodnotou hustoty vody, $0,99337 \text{ g/cm}^3$ ⁴⁸.

5.2 Relativní makroviskozita

Byla změřena kinematická viskozita ν , ze které byla poté vypočítána dynamická viskozita polymeru η_i . Pro výpočet relativní makroviskozity η_{rel} podle rovnice 2 byla použita tabulková hodnota viskozity vody $\eta_0 = 0,692 \text{ mPa.s}$ ⁴⁸.

koncentrace polymeru [%]	konstanta viskozimetru [mm^2/s^2]	kinematická viskozita [mm^2/s]	dynamická viskozita [mPa.s]
0,5	0,3001	$50,32 \pm 0,46$	$49,98 \pm 0,46$
0,25	0,03001	$8,273 \pm 0,121$	$8,218 \pm 0,120$
0,125	0,00998	$2,555 \pm 0,017$	$2,538 \pm 0,017$
0,0625	0,002995	$1,447 \pm 0,026$	$1,437 \pm 0,025$
0,03125	0,002995	$1,050 \pm 0,006$	$1,043 \pm 0,006$

Tabulka 8 Průměrná kinematická a dynamická viskozita koloidního roztoku polymeru P1

koncentrace polymeru [%]	konstanta viskozimetru [mm^2/s^2]	kinematická viskozita [mm^2/s]	dynamická viskozita [mPa.s]
0,5	0,3001	$30,71 \pm 1,48$	$30,51 \pm 1,47$
0,25	0,03001	$5,942 \pm 0,376$	$5,903 \pm 0,374$
0,125	0,00998	$2,099 \pm 0,025$	$2,085 \pm 0,025$
0,0625	0,002995	$1,297 \pm 0,008$	$1,288 \pm 0,008$
0,03125	0,002995	$0,9714 \pm 0,0046$	$0,9649 \pm 0,0045$

Tabulka 9 Průměrná kinematická a dynamická viskozita koloidního roztoku polymeru P2

koncentrace polymeru [%]	konstanta viskozimetru [mm ² /s ²]	kinematická viskozita [mm ² /s]	dynamická viskozita [mPa.s]
0,5	0,3001	44,12 ± 4,68	43,82 ± 4,65
0,25	0,03001	7,182 ± 0,035	7,135 ± 0,034
0,125	0,00998	2,422 ± 0,029	2,406 ± 0,029
0,0625	0,002995	1,419 ± 0,020	1,409 ± 0,020
0,03125	0,002995	1,055 ± 0,059	1,048 ± 0,058

Tabulka 10 Průměrná kinematická a dynamická viskozita koloidního roztoku polymeru P3

5.3 Velikost částic

V **tab. 11** je uveden přehled velikostí používaných nanočástic.

Označení	Velikost částic deklarovaná výrobcem	Hydrodynamický průměr částic deklarovaný výrobcem	Hydrodynamický průměr částic naměřený DLS
20	21 nm ± 1,5 nm	---	22,47 ± 0,15
60	59 nm ± 2,5 nm	58 - 65 nm	71,43 ± 0,15
100	97 nm ± 3 nm	97 - 106 nm	110,67 ± 0,95

Tabulka 11 Přehled velikostí používaných nanočástic

Stabilita suspenze polystyrenových nanosfér je zajištěna přidavkem surfaktantu a konzervační látky. Tyto přísady mohou způsobit zmenšení solvatačního obalu kolem jednotlivých částic. Vzorky měřené DLS byly připraveny disperzací 20 µl suspenze NČ do 1g roztoku polymeru. Příčinou nesouladu velikosti částic deklarovaných výrobcem a velikostí naměřenou DLS může být právě pokles koncentrace stabilizátorů a tím i možné zvětšení solvatačního obalu

5.4 Fotografická dokumentace shluků NČ

Ve vzorcích roztoků polymeru P3 o konc. 0,5 % a 0,25 % s 20 nm NČ, 0,5 % a 0,25 % s 60 nm NČ a konc. 0,5 % a 0,25 % se 100 nm, připravených původním způsobem **4.3.1**, se během přípravy vytvořily pouhým okem viditelné shluky či zákal. Korelogramy, získané při DLS měření těchto vzorků, navíc vykazovaly nestandardní průběh (viz **5.5**). Proto byly tyto vzorky protřepány na minitřepačce a znovu přeměřovány. Ty, u kterých byly shluky nejvíce patrné, byly vyfoceny a jsou zobrazeny na následujících stranách **obr. 12-14**.

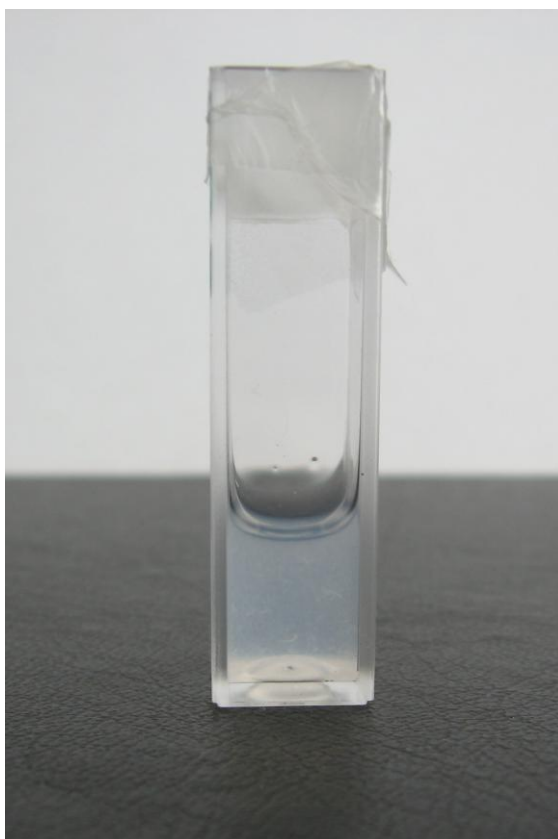
V některých případech byla pozorována jen mírná opalescence, která byla způsobená rozptylem světla částicemi koloidní velikosti. Tyto vzorky byly také měřeny DLS, avšak již je nebylo nutné protřepávat a znovu přeměřovat.



Obrázek 12 Shluky ve vzorcích P3 zhotovených původním způsobem přípravy- 0,25% s 20 nm NČ (nahore) a 0,5 % s 20 nm NČ (dole)



Obrázek 13 Shluky ve vzorcích P3 zhotovených původním způsobem přípravy- 0,25% s 60 nm NČ (nahore) a 0,5 % s 60 nm NČ (dole)



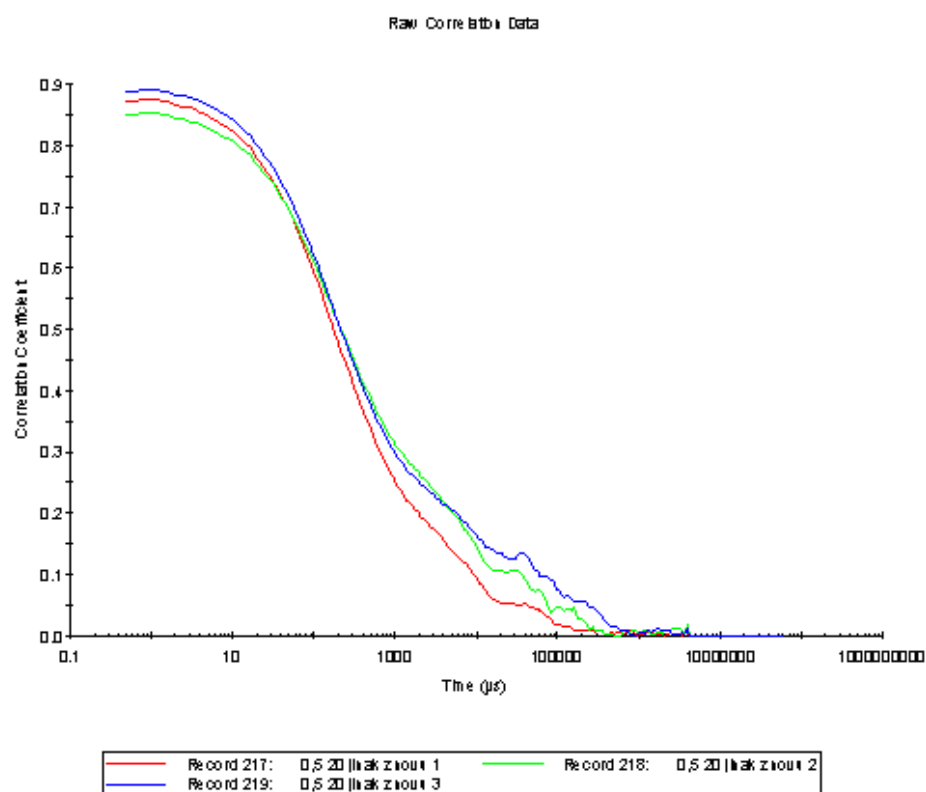
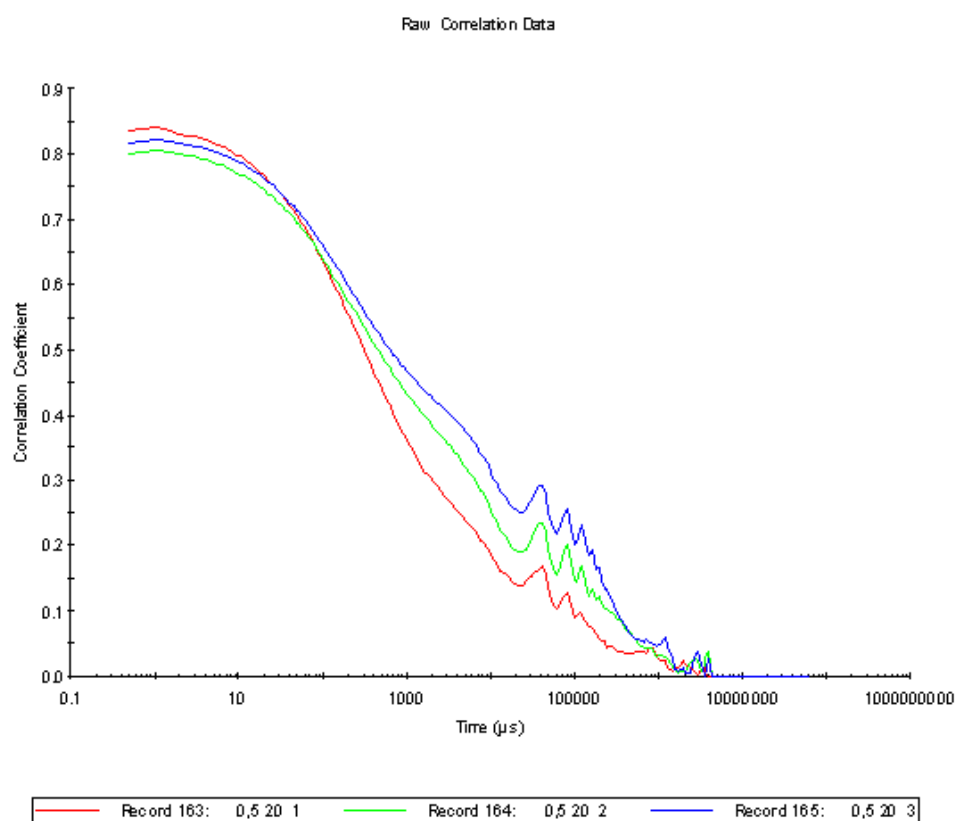
Obrázek 14 Shluky ve vzorcích P3 zhotovených původním způsobem přípravy- 0, 5 % se 100 nm NČ (nahore) a 0,25 % se 100nm NČ (dole)

5.5 Korelogramy

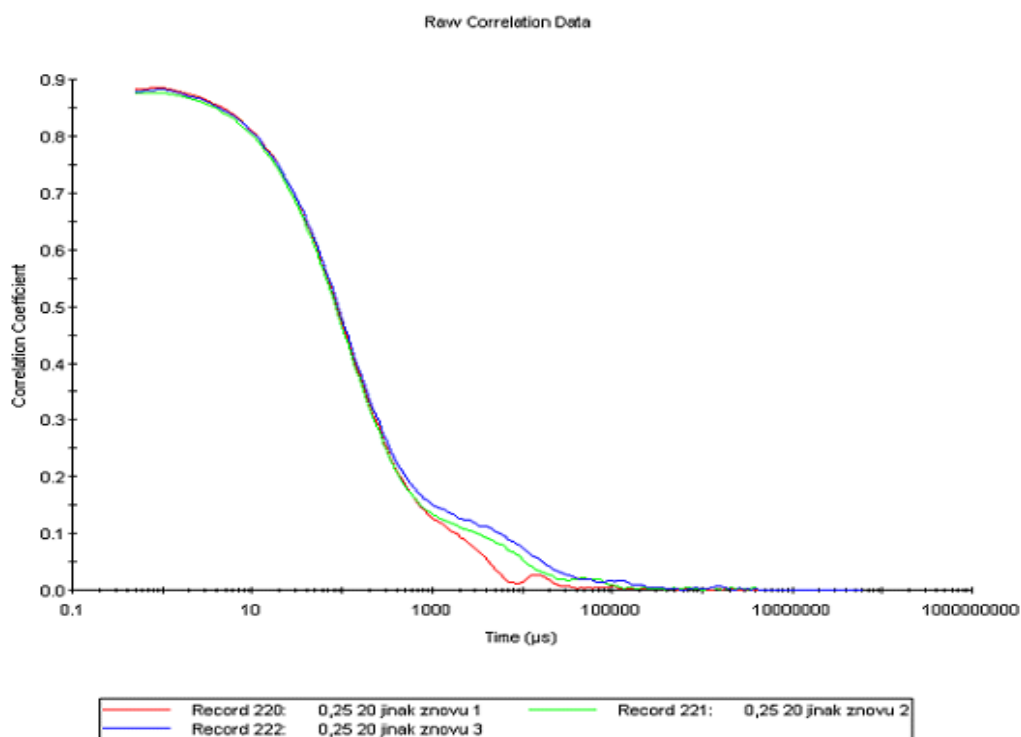
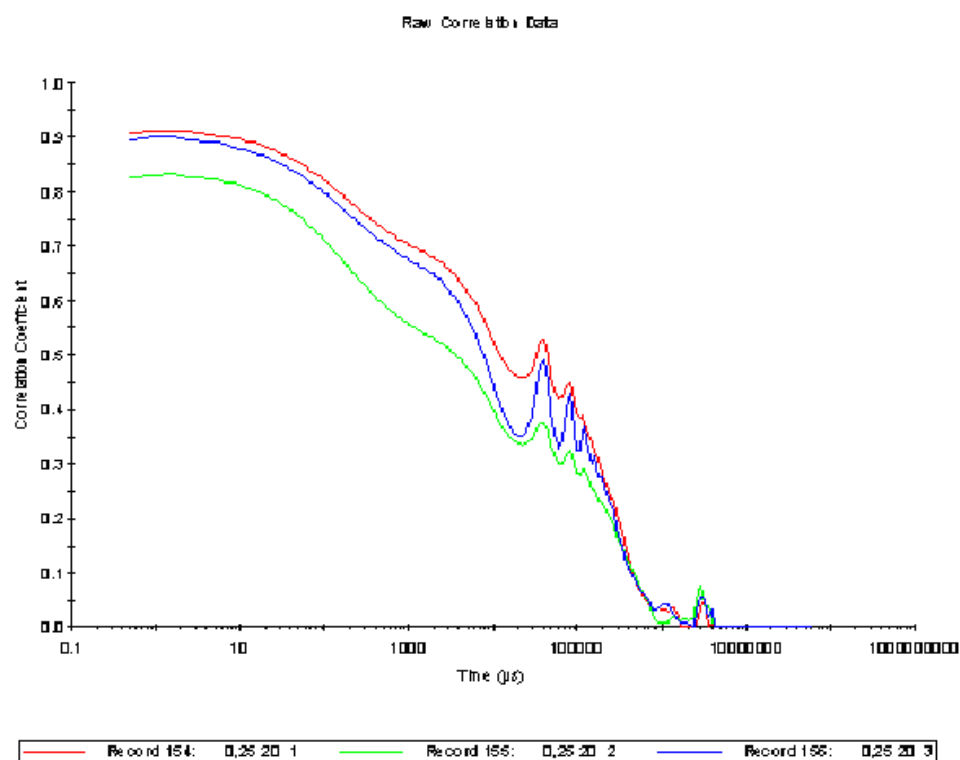
Na obrázcích na následujících stranách jsou zdokumentovány korelogramy pro vzorky roztoků polymerů, u nichž byly nejvíce znatelné shluky nebo zákal. Jedná se o vzorky o konc. 0,5 % s přídavkem 20 nm (**obr.15**), 60 nm (**obr.18**) a 100 nm NČ (**obr.20**) a o konc. 0,25 % s přídavkem 20 nm (**obr.16**), 60 nm (**obr.17**) a 100 nm NČ (**obr. 19**). Barevně odlišené křivky zobrazují 3 po sobě jdoucí měření téhož vzorku.

Horní obrázek vždy znázorňuje korelogram pro vzorek připravený původním způsobem a dolní obrázek pro vzorek připravený alternativním způsobem.

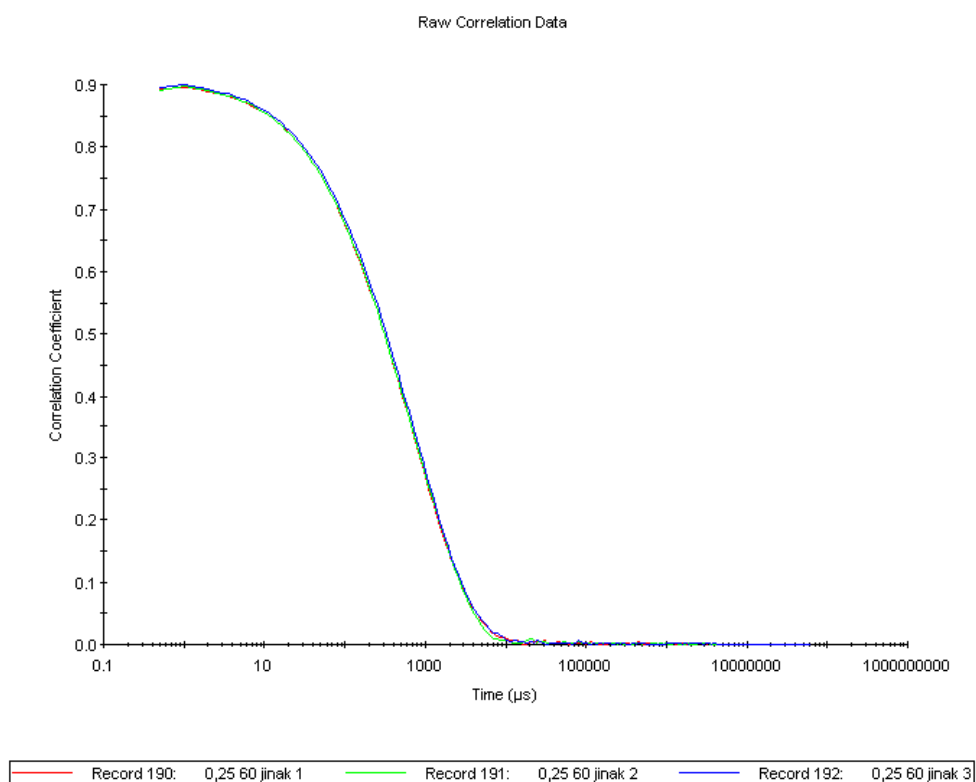
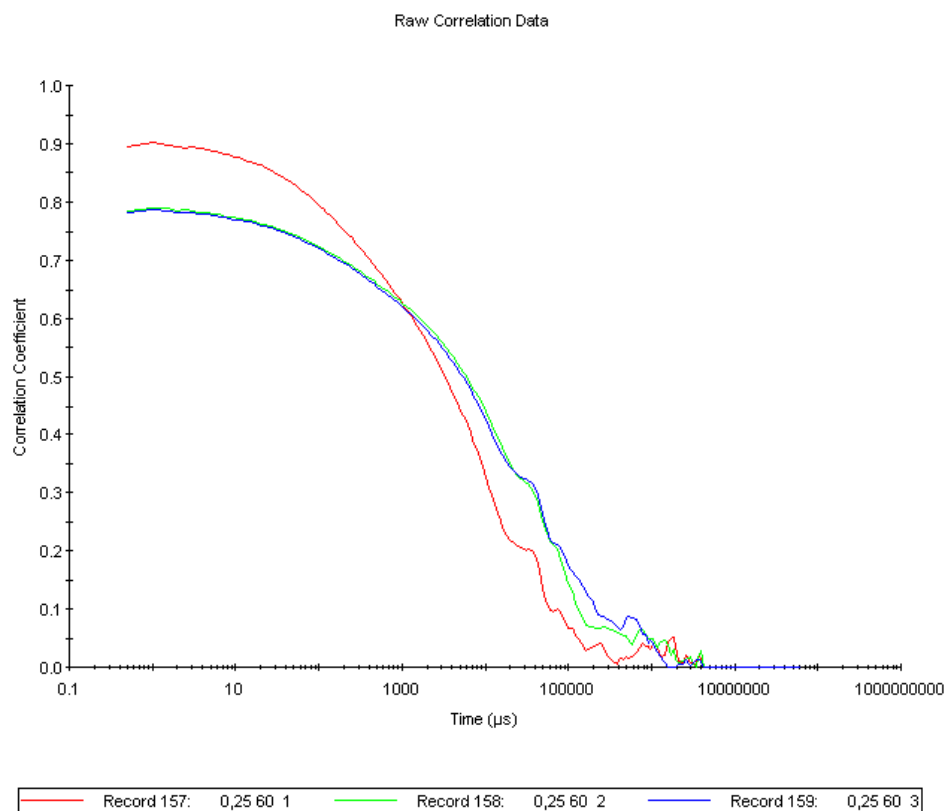
Při porovnání korelogramů vzorků připravených různými způsoby, je na první pohled znatelné zlepšení po přípravě vzorků alternativním způsobem. Korelogramy po sobě následujících měření jsou si podobnější, mají plynulejší průběh a korelační koeficienty pro nejkratší intervaly srovnávání intenzit signálu (0,5 μ s) se více blíží hodnotě 1.



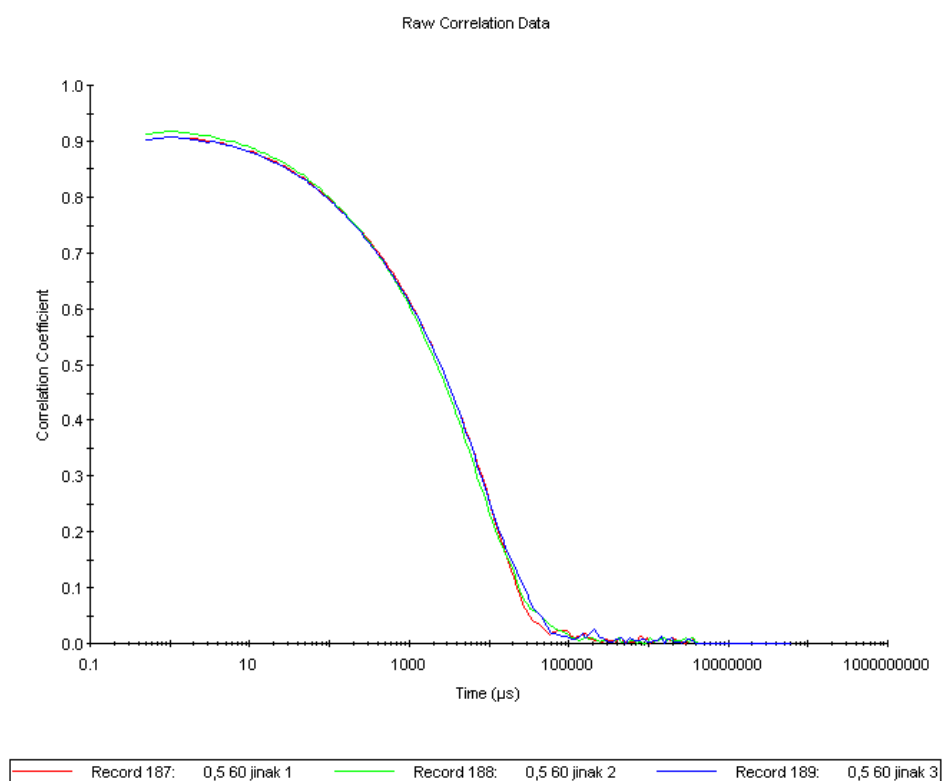
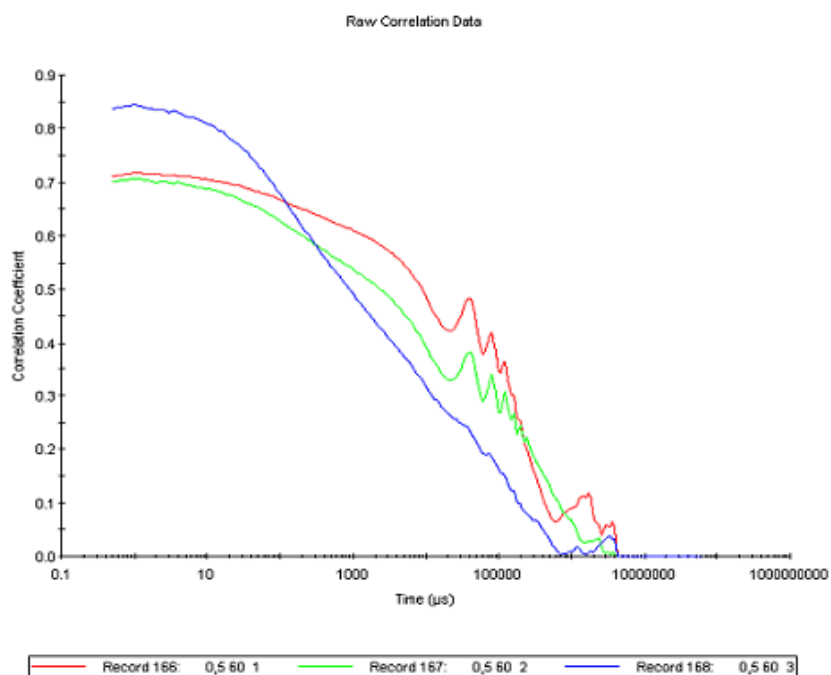
Obrázek 15 Korelogramy pro 0,5 % roztok polymeru P3 s 20 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)



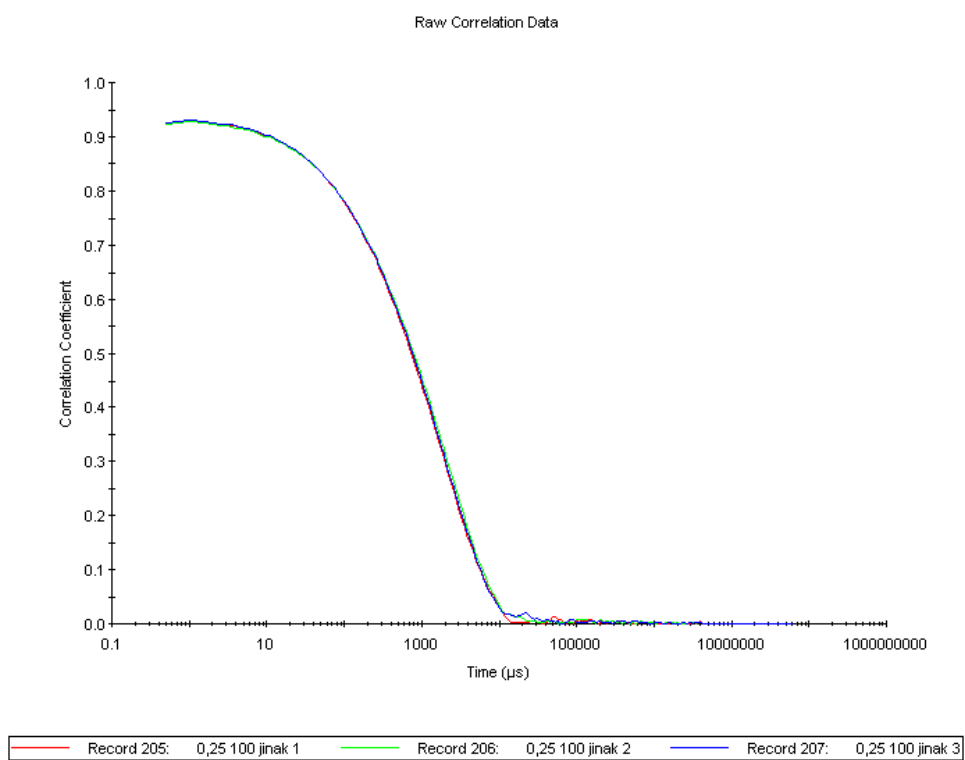
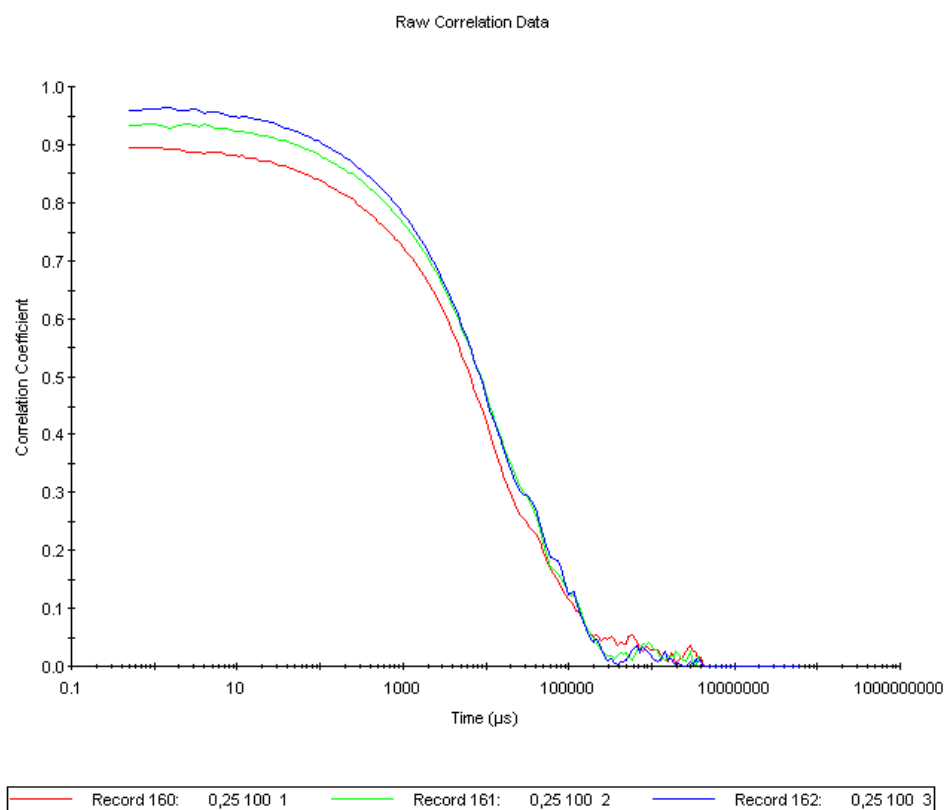
Obrázek 16 Korelogramy pro 0,25 % roztok polymeru P3 s 20 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)



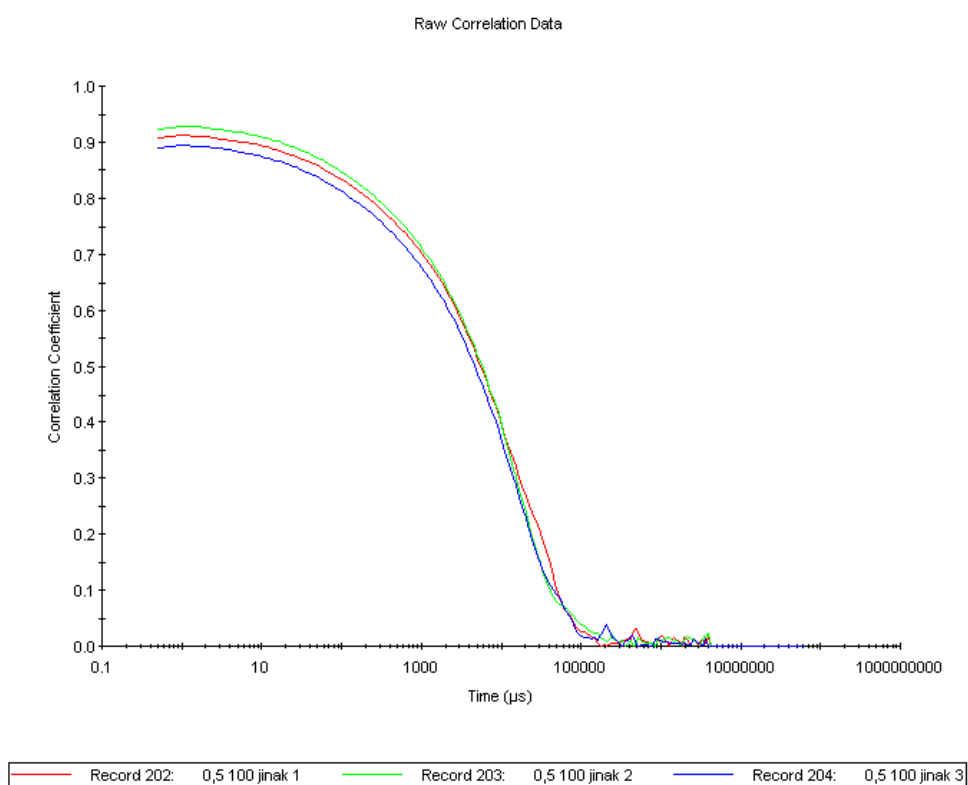
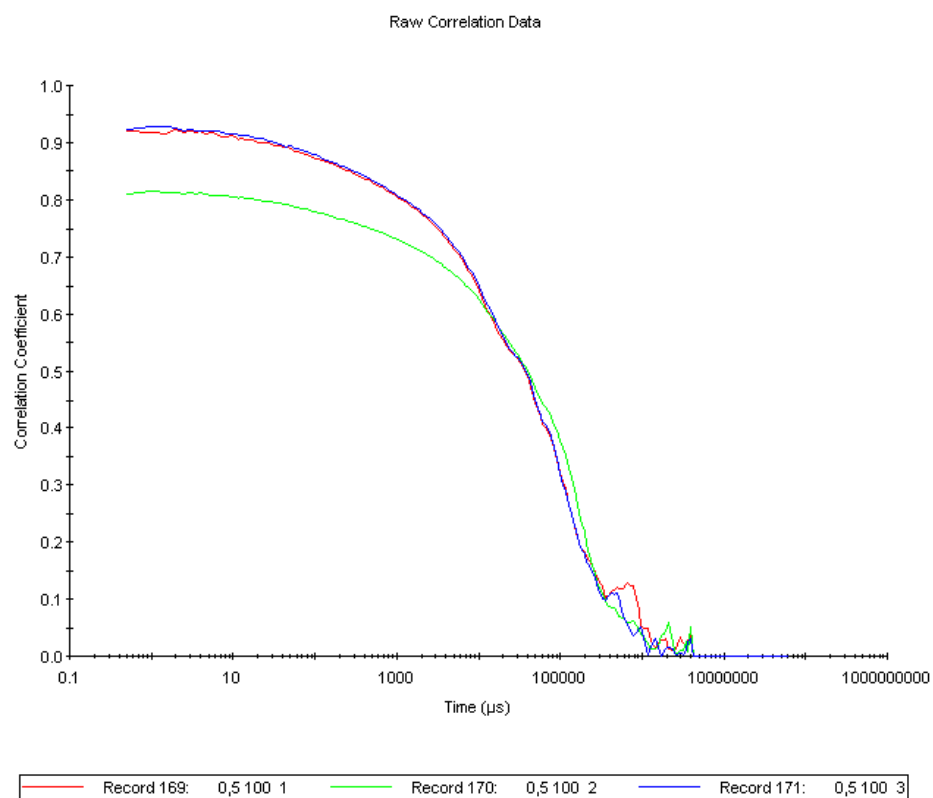
Obrázek 17 Korelogramy pro 0,25 % roztok polymeru P3 s 60 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)



Obrázek 18 Korelogramy pro 0,5 % roztok polymeru P3 s 60 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)



Obrázek 19 Korelogramy pro 0,25 % roztok polymeru P3 s 100 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)



Obrázek 20 Korelogramy pro 0,5 % roztok polymeru P3 s 100 nm NČ připraveného původním způsobem (nahore) a alternativním způsobem (dole)

5.6 Relativní nanoviskozita

Pro výpočet relativní nanoviskozity η_{Nrel} bylo potřeba nejprve změřit difúzní koeficienty částic s definovanou velikostí v koloidních roztocích polymerů o daných koncentracích D_i a ve vodě D_0 (viz **tab. 12-15**).

koncentrace polymeru [%]	velikost částic (difúzní koeficient) [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]		
	20 nm	60 nm	100 nm
0,5	$1,24 \pm 0,17$	$0,11 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,01$
0,25	$4,37 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,10$
0,125	$5,81 \pm 0,78$	$0,78 \pm 0,03$	$1,17 \pm 0,04$
0,0625	$6,83 \pm 1,18$	$1,44 \pm 0,07$	$1,69 \pm 0,04$
0,03125	$7,20 \pm 1,86$	$1,86 \pm 0,19$	$1,62 \pm 0,06$
0	$29,47 \pm 0,21$	$9,27 \pm 0,02$	$5,98 \pm 0,05$

Tabulka 12 Difúzní koeficienty NČ definovaných velikostí v roztocích polymeru P1 a jejich směrodatné odchylky

koncentrace polymeru [%]	velikost částic (difúzní koeficient) [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]		
	20 nm	60 nm	100 nm
0,5	$2,49 \pm 0,30$	$0,09 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,01$
0,25	$5,40 \pm 0,07$	$0,34 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,03$
0,125	$5,40 \pm 0,07$	$0,91 \pm 0,06$	$1,63 \pm 0,05$
0,0625	$5,53 \pm 0,17$	$1,73 \pm 0,04$	$1,70 \pm 0,01$
0,03125	$5,99 \pm 0,01$	$2,21 \pm 0,13$	$2,10 \pm 0,04$
0	$29,47 \pm 0,21$	$9,27 \pm 0,02$	$5,98 \pm 0,05$

Tabulka 13 Difúzní koeficienty NČ definovaných velikostí v roztocích polymeru P2 a jejich směrodatné odchylky

koncentrace polymeru [%]	velikost částic (difúzní koeficient) [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]		
	20 nm	60 nm	100 nm
0,5	$0,62 \pm 0,18$	$0,26 \pm 0,13$	$0,07 \pm 0,0081$
0,25	$0,26 \pm 0,08$	$0,17 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,003$
0,125	$1,39 \pm 0,21$	$0,55 \pm 0,14$	$0,5 \pm 0,07$
0,0625	$2,03 \pm 0,43$	$1,19 \pm 0,09$	$1,19 \pm 0,04$
0,03125	$5,00 \pm 0,20$	$1,85 \pm 0,01$	$1,60 \pm 0,09$
0	$29,47 \pm 0,21$	$9,27 \pm 0,02$	$5,98 \pm 0,05$

Tabulka 14 Difúzní koeficienty NČ definovaných velikostí v roztocích polymeru P3 a jejich směrodatné odchylky

koncentrace polymeru [%]	velikost částic (difúzní koeficient) [$\mu\text{m}^2/\text{s}$]		
	20 nm	60 nm	100 nm
0,5	$1,32 \pm 0,14$	$0,29 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,01$
0,25	$3,47 \pm 0,79$	$1,89 \pm 0,16$	$0,89 \pm 0,11$
0,125	$1,07 \pm 0,18$	$2,11 \pm 0,06$	$1,63 \pm 0,03$
0,0625	$5,29 \pm 0,35$	$2,89 \pm 0,04$	$2,38 \pm 0,02$
0,03125	$6,05 \pm 0,12$	$3,44 \pm 0,04$	$2,89 \pm 0,04$
0	$29,47 \pm 0,21$	$9,27 \pm 0,02$	$5,98 \pm 0,05$

Tabulka 15 Difúzní koeficienty NČ definovaných velikostí v roztocích polymeru P3a a jejich směrodatné odchylky

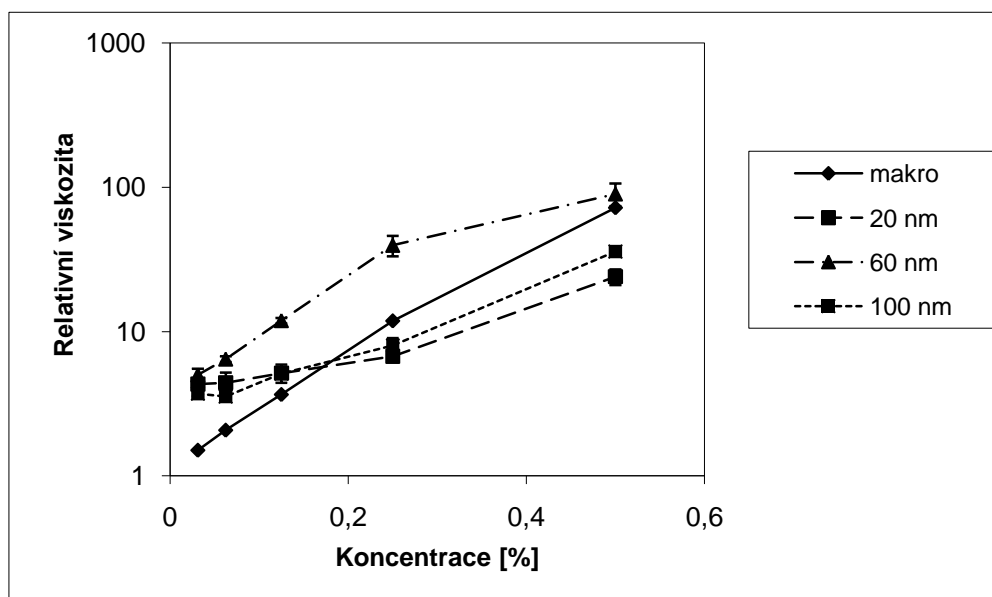
5.7 Srovnání relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity

Vypočtené hodnoty relativní makroviskozity η_{rel} a relativní nanoviskozity η_{Nrel} pro použité koncentrace polymeru a částice definovaných velikostí jsou uvedeny v **tab. 16-19**.

Grafy 1-4 znázorňují závislost obou relativních viskozit (makro- i nano-) na koncentraci roztoků polymerů. Pro zobrazení bylo použito semilogaritmické měřítko, v němž zřetelněji vyniknou rozdíly získaných hodnot zejména v nižších koncentracích roztoků polymerů, které by v lineárním měřítku nebyly vidět.

Polymer P1	rel. makro-viskozita		rel. nanoviskozita								
			20 nm			60 nm			100 nm		
konc. (%)	průměr	SD	průměr	SD	n	průměr	SD	n	průměr	SD	n
0,03125	1,51	0,01	4,33	0,15	6	5,01	0,53	3	3,71	0,14	6
0,0625	2,08	0,04	4,42	0,77	6	6,45	0,29	3	3,55	0,08	6
0,125	3,67	0,02	5,16	0,74	6	11,91	0,52	3	5,11	0,16	3
0,25	11,87	0,17	6,74	0,05	3	39,66	6,34	3	8,03	0,98	3
0,5	72,23	0,66	24,03	2,98	3	90,02	16,05	6	35,89	2,15	3

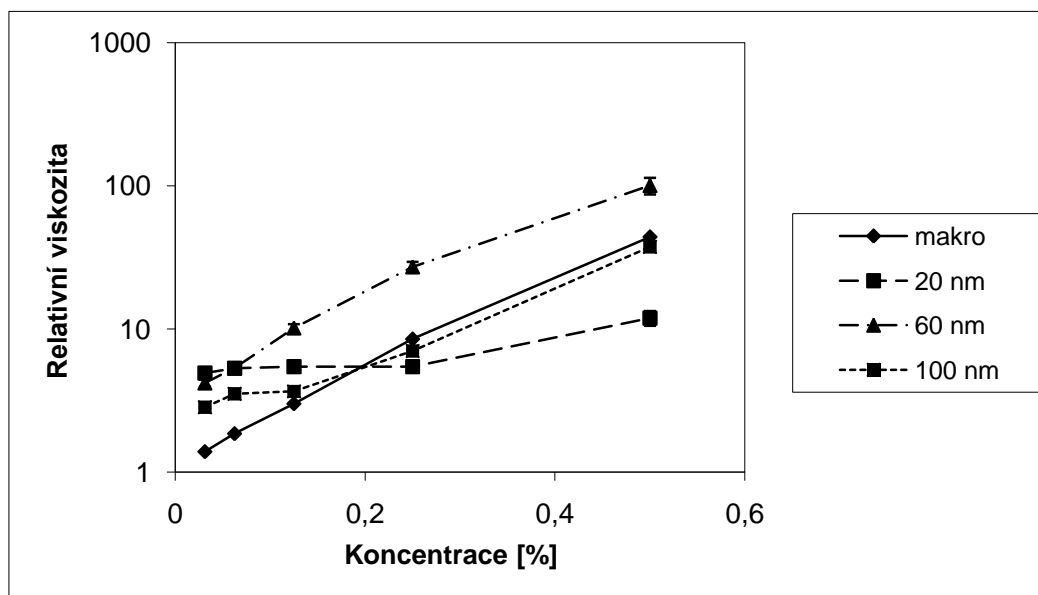
Tabulka 16 Hodnoty relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity se směrodatnými odchylkami u polymeru P1



Graf 1 Závislost relativních viskozit na koncentraci polymeru P1

Polymer P2	rel. makro- viskozita		rel. nanoviskozita								
			20 nm			60 nm			100 nm		
konc. (%)	průměr	SD	průměr	SD	n	průměr	SD	n	průměr	SD	n
0,03125	1,39	0,01	4,92	0,30	3	4,20	0,25	3	2,84	0,05	3
0,0625	1,86	0,01	5,33	0,16	3	5,35	0,13	3	3,52	0,02	3
0,125	3,01	0,04	5,45	0,07	3	10,17	0,65	3	3,67	0,11	3
0,25	8,53	0,54	5,45	0,07	3	27,15	2,32	3	7,02	0,25	3
0,5	44,08	2,12	11,93	1,40	3	100,72	13,49	12	37,57	1,93	6

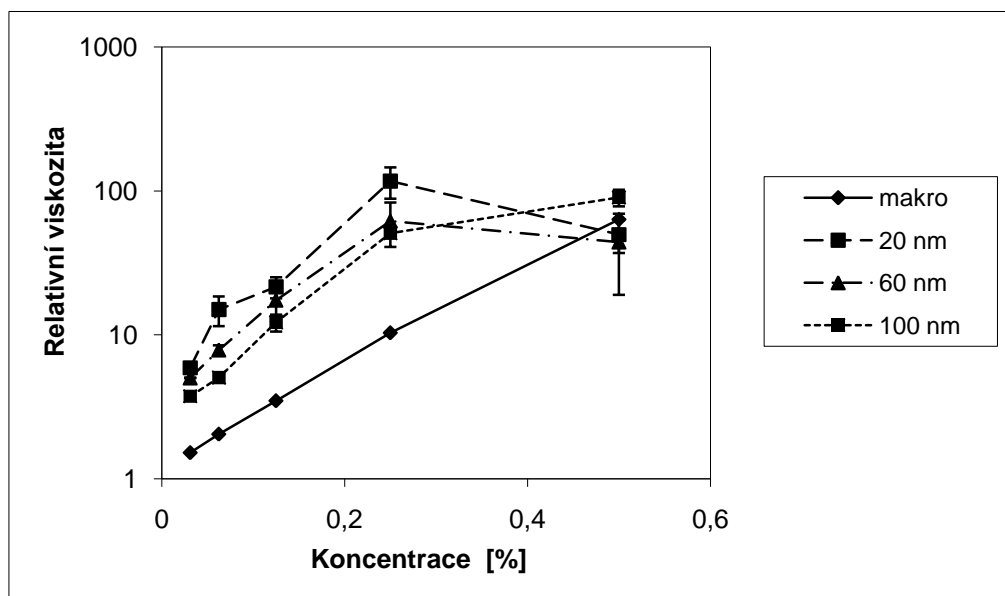
Tabulka 17 Hodnoty relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity se směrodatnými odchylkami u polymeru P2



Graf 2 Závislost relativní viskozity na koncentraci polymeru P2

Polymer P3	rel. makro- viskozita		rel. nanoviskozita								
			20 nm			60 nm			100 nm		
konc. (%)	průměr	SD	průměr	SD	n	průměr	SD	n	průměr	SD	n
0,03125	1,51	0,16	5,90	0,24	3	5,01	0,03	3	3,74	0,19	3
0,0625	2,04	0,01	14,99	3,53	3	7,84	0,59	3	5,04	0,16	3
0,125	3,48	0,04	21,51	3,57	3	17,41	3,79	3	12,19	1,64	3
0,25	10,31	0,15	116,96	28,90	3	61,79	21,06	3	50,84	1,09	3
0,5	63,33	3,53	49,66	12,65	3	44,14	25,20	3	89,93	11,72	3

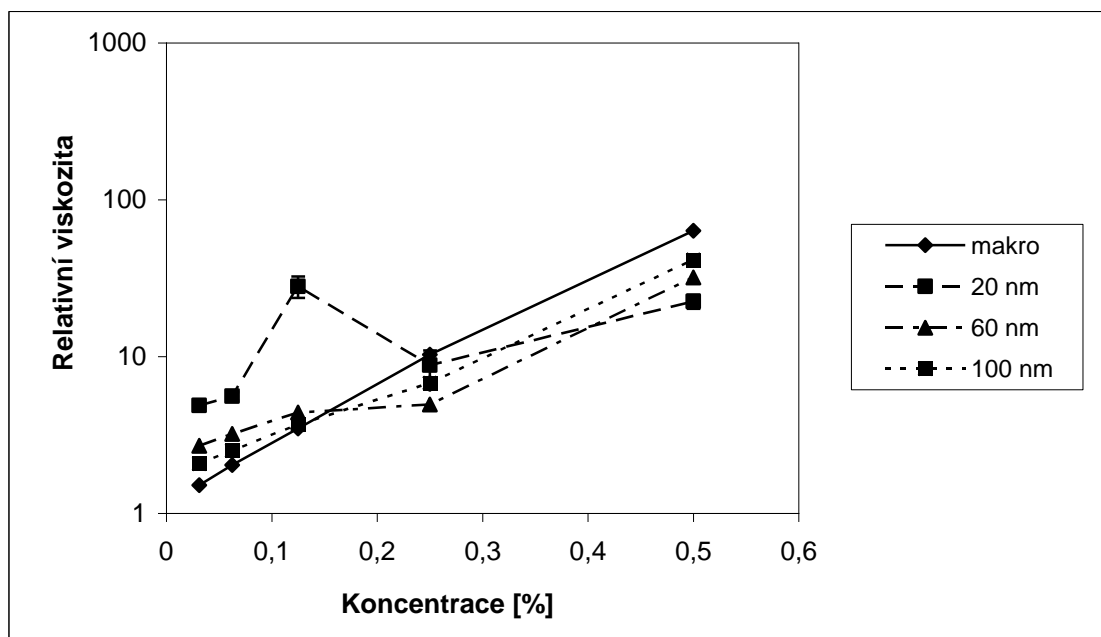
Tabulka 18 Hodnoty relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity se směrodatnými odchylkami u polymeru P3



Graf 3 Závislost relativní viskozity na koncentraci polymeru P3

Polymer P3a	rel. makro- viskozita		rel. nanoviskozita								
			20 nm			60 nm			100 nm		
konc. (%)	průměr	SD	průměr	SD	n	průměr	SD	n	průměr	SD	n
0,03125	1,51	0,16	4,87	0,10	3	2,70	0,03	3	2,07	0,02	3
0,0625	2,04	0,01	5,58	0,36	3	3,21	0,04	3	2,51	0,02	3
0,125	3,48	0,04	28,04	4,36	3	4,40	0,13	3	3,67	0,07	3
0,25	10,31	0,15	8,80	2,12	3	4,94	0,43	3	6,77	0,81	3
0,5	63,33	3,53	22,49	2,31	3	31,97	2,35	3	41,40	3,15	3

Tabulka 19 Hodnoty relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity se směrodatnými odchylkami u polymeru P3a



Graf 4 Závislost relativní viskozity na koncentraci polymeru P3a

Relativní nanoviskozita vyjadřuje kolikrát se částice pohybují pomaleji v roztoku polymeru prostředí, než by se pohybovaly ve vodě. Rel. makroviskozita se vzrůstající koncentrací polymeru stoupá. Rel. nanoviskozita také stoupá se vzrůstající koncentrací polymeru, s výjimkou úseků mezi koncentracemi 0,25 % a 0,5 % u polymeru P3 a mezi 0,125 % a 0,25 % u P3a.

Na všech grafech je křivka relativní makroviskozity η_{rel} téměř lineární. Oproti ní u křivek relativní nanoviskozity η_{Nrel} dochází ve většině případů ke zlomu, nejčastěji u 0,25% roztoků polymerů. Navíc je patrné, že hodnoty relativní nanoviskozity η_{Nrel} neodpovídají hodnotám relativní makroviskozity η_{rel} .

Průběh křivek u polymerů P1 a P2 si je v mnohém podobný. Překvapivě si jsou svým chováním bližší NČ o velikosti 20 nm a 100 nm. Okolo koncentrace polymeru 0,2 % se relativní nanoviskozita η_{Nrel} , zjištěná pomocí 20nm a 100nm nanosond, přibližně rovná relativní makroviskozitě η_{rel} . V případě 60nm částic probíhá křivka relativní nanoviskozity η_{Nrel} v celém rozsahu koncentrací nad ostatními křivkami. Pouze u polymeru P2 se v koncentracích 0,03125 % a 0,0625 % téměř překrývá s křivkou 20nm částic. Relativní nanoviskozita η_{Nrel} polymerů P1 a P2 při koncentracích 0,03125 % až 0,125 klesá v pořadí velikosti použitých NČ 60 nm, 20 nm a 100 nm s výjimkou při koncentraci 0,03125 % u polymeru P2, kde převyšuje rel. nanoviskozita η_{Nrel} zjištěná 20nm NČ rel.nanoviskozitu stanovenou 60nm nanosondami. Pořadí hodnot rel. nanoviskozity dle velikostí nanosond se mění pro koncentrace 0,25 % a 0,5 % roztoků polymerů P1 a P2 na 60 nm, 100 nm a 20 nm.

V **grafech 3 a 4** lze porovnat výsledky měření vzorků téhož polymeru připravených odlišným způsobem přípravy. Ve vzorcích polymeru P3, připravených původním postupem, došlo ke vzniku shluků částic (**obr.12-14**). Tato skutečnost zřejmě ovlivnila průběh křivek. Ty oproti křivkám polymeru P3, připravených alternativním způsobem (P3a), dosahují několikanásobně vyšších hodnot (s výjimkou koncentrace 0,125 % u 20nm částic) a mají také výraznější zlomy při koncentraci 0,25 %. Navíc v případě 20nm a 60nm částic od tohoto zlomu křivky klesají až pod hodnoty relativní makroviskozity η_{Nrel} . Křivka pro 100nm NČ probíhá v celém rozsahu koncentrací nad křivkou rel. makroviskozity η_{Nrel} . U roztoků polymeru P3 a P3a v koncentracích 0,03125 % až 0,125 % klesá rel.nanoviskozita v pořadí použitých NČ 20 nm, 60 nm,

100 nm. Totéž platí pro koncentraci 0,25 % polymeru P3. Při této koncentraci u polymeru P3a se mění pořadí hodnot rel. nanoviskozity NČ na 20 nm, 100 nm a 60 nm a u 0,5 % roztoku na 100 nm, 20 nm, 60 nm. Pokles rel. nanoviskozity při 0,5% koncentraci polymeru P3a je v pořadí 100nm, 60nm a 20nm velikosti použitých NČ.

V **grafu 4** dochází pouze k jedné výrazné výchylce a to při koncentraci 0,125 % v případě 20nm částic. Pro tuto nepravidelnost nebylo nalezeno vysvětlení. Jinak nejsou u vzorků P3a zjevné žádné výrazné zlomy křivek. Rozdílem od vzorků P3 je také poloha jednotlivých křivek. Křivky P3 probíhají bezmála nad úrovní křivky relativní makroviskozity η_{rel} . U P3a však dochází ke sbíhání a křížení křivek jak s křivkou rel.makroviskozity, tak i křivkami relativní nanoviskozity η_{Nrel} mezi sebou. Větší částí probíhají křivky P3a pod úrovní křivky relativní makroviskozity η_{rel} .

6 ZÁVĚRY

1. Nepárovým t-testem bylo prokázáno, že pyknometricky naměřené hodnoty hustoty roztoků polymeru se ve většině případů významně neliší od hodnoty hustoty vody při 37 °C. Aby se eliminovaly nepřesnosti pyknometricky stanovených hodnot hustot roztoků polymerů, byla pro další výpočty použita tabulková hodnota hustoty vody.
2. Pořadí polymerů podle viskozity naměřené kapilární viskozimetrií odpovídá pořadí podle viskozity deklarované výrobcem.
3. Při prvním způsobu přípravy vzorků pro DLS měření z polymeru P3 se vytvořily pouhým okem viditelné shluky částic. Při použití alternativního postupu přípravy vzorků již k tomuto jevu nedocházelo.
4. Relativní nanoviskozita a relativní makroviskozita se ve své podstatě odlišují, což je patrné z grafického znázornění naměřených hodnot. Pohyb částic se různí v závislosti na jejich velikosti, na typu použitého polymeru i na koncentraci koloidního roztoku.
5. Ze srovnání získaných hodnot relativní makroviskozity a relativní nanoviskozity je patrné, že pro pohyb 20nm, 60nm a 100nm nanočástic ve zředěných disperzích polymerů P1, P2 a P3 má nanoviskozita větší význam než makroviskozita.

7 SEZNAM ZKRATEK

HA	Hydroxyapatit
NČ	Nanočástice
DLS	Dynamický rozptyl světla
PI	Index polydisperzity
PCS	Fotonová korelační spektroskopie
SI	Mezinárodně domluvená soustava jednotek fyzikálních veličin
HPC	Hydroxypropylcelulóza
HEC	Hydroxyethylcelulóza
PS	Polystyren
SD	Směrodatná odchylka
RSD	Relativní směrodatná odchylka

8 POUŽITÁ LITERATURA

- ¹ *Nanoscience and nanotechnologies: What are nanoscience and nanotechnologies?* [online]. London : The Royal Society, 2004 [cit. 2011-02-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>>. ISBN 0854036040.
- ² LOEFFLER, Jonathan., et al. *Overview on Promising Nanomaterials for Industrial Applications. In Nanomaterial Roadmap 2015* [online]. Karlsruhe : Steinbeis-Europa-Zentrum, 2005 [cit. 2011-04-30]. Dostupné z WWW: <http://www.nanoroad.net/download/overview_nanomaterials.pdf>.
- ³ ROBINSON, Brian. H. *Self-assembly* [online]. Amsterdam : IOS Press, 2003 [cit. 2011-04-30]. Some Thoughts, p. 12 . Dostupné z WWW: <http://books.google.cz/books?id=Z6_hO1PyemIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>. ISBN 1 58603 382 4.
- ⁴ SLABÁKOVÁ, Lenka. *Biokeramické materiály a jejich biokompatibilita s kostními tkáněmi* [online]. Brno, 2008. 35 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. Dostupné z WWW: <http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=7201>.
- ⁵ ŠRÁMEK, Jaromír. *Nanotechnologie v medicíně* [online]. Brno : Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta- Biofyzikální ústav, 2009 [cit. 2011-05-01]. Nanomedicína v onkologii, s.9 . Dostupné z WWW: <<http://www.med.muni.cz/~formol/doc/nanotech.pdf>>.
- ⁶ PRNKA, Tasilo; ŠPERLINK, Karel. *Bionanotechnologie, nanobiotechnologie, nanomedicína* [online]. Ostrava : Repronis, 2006 [cit. 2011-02-08]. Dostupné z WWW: <<http://www.nanotechnologie.cz/storage/nanotechnologie200610.pdf?#page=11>>. ISBN 80-7329-134-7.
- ⁷ TORCHILIN, Vladimir P. *Nanoparticulates as drug carriers* [online]. London : Imperial college Press, 2006 [cit. 2011-05-01]. Dostupné z WWW: <<http://books.google.cz>>. ISBN 1-86094-630-5.
- ⁸ *www.news-medical.net* [online]. 2006 [cit. 2011-05-01]. Cisplatin nanoliposomes for cancer therapy. Dostupné z WWW: <<http://www.news-medical.net/news/2006/09/19/20196.aspx>>.
- ⁹ KRÄTSCHMER, Wolfgang . Fullerenes and fullerites: New forms of carbon . *Nanostructured Materials* [online]. 1995, 6, 1-4, [cit. 2011-05-01]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- ¹⁰ RABIŠKOVÁ, Miloslava. Nanočástice pro lékové formy. *Remedia* [online]. 2007, 5, [cit. 2011-05-01]. Dostupný z WWW: <<http://www.remmedia.cz/Clanky/Lekove-formy/Nanocastice-pro-lekove-formy/6-H-ix.magarticle.aspx>>.
- ¹¹ The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. In WILLIAMS, David, et al. *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks* [online]. [s.l.] : [s.n.], 2006 [cit. 2011-12-06]. Dostupné z WWW: <http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_003b.pdf>.

-
- ¹² BICA, Ioan. Device for nanoparticle production using plasma methods. *Revista de Metalurgia* [online]. 1999, 35, 2, [cit. 2011-05-02]. Dostupný z WWW: <<http://revistademetalurgia.revistas.csic.es/index.php/revistademetalurgia/article/viewFile/614/624>>.
- ¹³ HOLISTER, Paul. *Nanoparticles* [online]. London : Cientifica, 2003 [cit. 2011-05-02]. Dostupný z WWW: <http://images.iop.org/dl/nano/wp/nanoparticles_WP.pdf>.
- ¹⁴ REICHLOVÁ, Vendula. *Sonochemická příprava oxidických materiálů* [online]. Brno, 2006. 74 s. Diplomová práce. Přírodovědecká Fakulta Masarykovy Univerzity. Dostupný z WWW: <http://is.muni.cz/th/63748/prif_m/diplomova_prace.pdf>.
- ¹⁵ MÜLLER, Rainer H.; PETERS, Katrin. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs : I. Preparation by a size-reduction technique . *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 1998, 160, 2, pp. 229- 237 [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>. doi:10.1016/S0378-5173(97)00311-6
- ¹⁶ PETERS, K., et al. Preparation of a clofazimine nanosuspension for intravenous use and evaluation of its therapeutic efficacy in murine Mycobacterium avium infection . *Jurnal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 1999, 45, 1, , pp.77-83 [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <<http://jac.oxfordjournals.org>>. doi: 10.1093/jac/45.1.77
- ¹⁷ CHINGUNPITUK, Jiraporn. Nanosuspension Technology for Drug Delivery. *Walailak Jurnal Science and technology* [online]. 2007, 4, 2, pp.139-153 [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <<http://masterorg.wu.ac.th/file/ird-20090611-PuBED.Jiraporn.pdf>>.
- ¹⁸ *Nanoscience and nanotechnologies: Nanomanufacturing and the industrial application of nanotechnologies* [online]. London : The Royal Society, 2004 [cit. 2011-02-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>>. ISBN 0854036040.
- ¹⁹ VAN EERDENBRUGH, Bernard; VAN DEN MOOTER, Guy; AUGUSTIJNS, Patrick. Top-down production of drug nanocrystals: Nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products . *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2008, 364, 1, pp.64-75 [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.07.023
- ²⁰ NIEUWENHUIS, J.H., et al. Integrated Coulter counter based on 2-dimensional liquid aperture control. *Sensors and Actuators B: Chemical* , pp .44-50 [online]. 2004, 102, 1, [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>.
- ²¹ KVÍTEK, Libor. *Metody studia koloidních soustav* [online]. Olomouc : Katedra fyzikální chemie PřF UP Olomouc, 2006 [cit. 2011-04-30]. Elektrické vlastnosti koloidů – zeta potenciál, s.20 . Dostupné z WWW: <<http://chemikalie.upol.cz/skripta/msk/msk.pdf>>.
- ²² Zetasizer Nano User Manual, Operation on the Zetasizer Nano- Zeta potential measurement, Malvern Instruments Ltd. 2007, 3.1
- ²³ POLČÍK, M. Sledování nanášení barviva pomocí měření zeta potenciálu. *Chemagazín* [online]. 2010, 4, [cit. 2011-04-30]. Dostupný z WWW: <http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHXX_4_cl9.pdf>.
- ²⁴ LAKSHMI, Prasanna; GIDDAM, Ashwini Kumar. Nanosuspension technology : review . *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* [online].

-
- 2010, 2, 4, [cit. 2011-05-03]. Dostupný z WWW: <<http://www.ijppsjournal.com/Vol2Suppl4/897.pdf>>. ISSN 0975-1491.
- ²⁵ VISWANATH, Dabir S., et al. *Viscosity of Liquids: Theory, Estimation, Experiment, and Data* [online]. Dordrecht : Springer, 2007 [cit. 2011-05-03]. Dostupné z WWW:<<http://books.google.cz>>. ISBN 1402054815
- ²⁶ Wwww.wikipedia.cz [online]. 2011, 13.1.2011 [cit. 2011-02-09]. Viskozita. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Viskozita>>
- ²⁷ Ministerstvo zdravotnictví ČR. Český lékopis 2009. Praha: Grada, 2009, 3968 s., ISBN 978-80-247-2994-7
- ²⁸ Obecná aerodynamika- učební text VÚT Brno [online] [cit. 2011-02-12]. Dostupné z WWW: <<http://lu.fme.vutbr.cz/ucebnice/opory/aerodynamics.php>>
- ²⁹ Wwww.converter.cz [online]. 2002 [cit. 2011-05-04]. CGS systém. Dostupné z WWW: <<http://www.converter.cz/cgs.htm>>.
- ³⁰ DVOŘÁK, Lukáš. *Vlastnosti tekutin* [online], Ostrava: Vysoká škola báňská- Technická univerzita Ostrava, 2010, [cit. 2011-02-12]. 62 s., Dostupné z WWW: <<http://www.338.vsb.cz/PDF/vlastnosti%20tekutin.pdf>>.
- ³¹ *Měření viskozity* [online], Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005, [cit. 2011-05-10]. Dostupné z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/mereni_viskozity.html>
- ³² JANALÍK, Jaroslav. *Viskozita tekutin a její měření* [online]. Ostrava : Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, 2010 [cit. 2011-05-09]. Dostupné z WWW: <www.338.vsb.cz/PDF/TEXTviskozitaPDF.pdf>.
- ³³ Wwww.verkon.cz [online]. 2009 [cit 2011-02-13]. Viskozimetry vibrační. Dostupné z WWW: <<http://www.verkon.cz/viskozimetry-vibracni/>>.
- ³⁴ Wwww.verkon.cz [online]. 2009 [cit 2011-02-13]. Pohárky výtokové. Dostupné z WWW: <<http://www.verkon.cz/poharky-vytokove/?detail=poharek-vytokovy-forduv-kelimek->>.
- ³⁵ YAO, Alison. et al., Microrheology with optical tweezers, *Lab on a Chip* [online]. 2009, 9, 17, pp. 2568-2575 Dostupné z WWW: <<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2009/LC/b907992k>>.
- ³⁶ Wwww.sciencedaily.com [online]. 2010 [cit. 2011-02-14]. Institute of Physical Chemistry of the Polish Academy of Sciences :Viscosity at the Nanoscale: Intriguing 50-Year-Old Puzzle Solved. Dostupné z WWW: <<http://www.sciencedaily.com/releases/2010/06/100627201529.htm>>.
- ³⁷ SZYMANSKI, J. et al., Diffusion and Viscosity in a Crowded Environment: from Nano- to Macroscale, *The Jurnal of Physical Chemistry B* [online]. 2006, Vol. 110, Iss. 51, pp. 25593-25597
- ³⁸ MC.KINTOSH, F.D., SCHMIDT, C.F., Microrheology, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online].1999, Vol. 4, Iss. 4, s.300-307
- ³⁹ Metody mikroskopie- Mikroskopie atomárních sil [online]. [cit. 2011-02-15] Ústav lékařské biologie, Lékařská fakulta University Palackého Olomouc, 2004, Dostupné z <http://biologie.upol.cz/mikroskopie/afm.htm>

-
- ⁴⁰ SQUIRES, Todd M.; MASON, Thomas G. Fluid Mechanics of Microrheology. *Annual Review of Fluid Mechanics* [online]. 2010, 42, [cit. 2011-05-04]. Dostupný z WWW: <http://squerver.chemengr.ucsb.edu/Publications_files/ARFL42preprint.pdf>.
- ⁴¹ KVÍTEK, L., PANÁČEK, A., Základy koloidní chemie [online], Katedra fyzikální chemie PřF UP Olomouc, 2007, Dostupný z WWW: <<http://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf>>.
- ⁴² LUKYANOV, Andrey ; ANDREEV, Vitali; POZDYSHEV, Vladimir . Influence of disperse phase concentration on character of Brownian motion of particles. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 1990, 137, 1, [cit. 2011-05-09]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- ⁴³ *Www.malvern.com* [online]. 2007 [cit. 2011-05-08]. Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes. Dostupné z WWW: <<http://www.malvern.com/common/downloads/campaign/MRK656-01.pdf>>.
- ⁴⁴ MAXIT, B., Particle size measurements of dark and concentrated dispersions by dynamic light scattering [online]. *Labmate online*, 2010, [cit. 2011-02-15] , Dostupné z WWW: <<http://www.labmate-online.com/search/articles/Particle%2Bsize%2Bmeasurements%2Bof%2Bdark%2Band%2Bconcentrated%2Bdispersions%2Bby/>>.
- ⁴⁵ ROWE, R.C., et al. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5th ed. London : Pharmaceutical Press, 2006. 918 s. ISBN 0-85369-618-7.
- ⁴⁶ *www.chemblink.com* [online]. 2011, Hydroxypropyl cellulose [cit. 2011-02-17], Dostupné z WWW: <<http://www.chemblink.com/products/9004-64-2.htm>>.
- ⁴⁷ *Www.chemblink.com* [online]. 2011, Hydroxyethyl cellulose [cit. 2011-02-17], Dostupné z WWW: <<http://www.chemblink.com/products/9004-62-0.htm>>.
- ⁴⁸ *Www.thermexcel.com* [online]. 2003 [cit. 2011-05-03]. Physical characteristics of water . Dostupné z WWW: <http://www.thermexcel.com/english/tables/eau_atm.htm>.